Aus dem Institut für Pathologie
der Freien Universität Berlin
Klinikum Steglitz
(Lehrstuhlinhaber: Professor Dr. E. Stöcker)

Wachstumsvorgänge, altersabhängiger physiologischer Zellersatz und Folsäure - induzierte Zellerneuerung in mesenchymalen, renalen Zellen von Ratten Autoradiographische Untersuchungen nach Dauerinfusion von ^{3}H-Thymidin x)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Joachim Bengeforth

Berlin

1978

x) Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, Aktenzeichen Sto 41/8 und SFB 105, B_4

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544718_0003

Aus dem Institut für Pathologie
der Freien Universität Berlin
Klinikum Steglitz
(Lehrstuhlinhaber: Professor Dr. E. Stöcker)

Wachstumsvorgänge, altersabhängiger physiologischer Zellersatz und Folsäure - induzierte Zellerneuerung in mesenchymalen, renalen Zellen von Ratten Autoradiographische Untersuchungen nach Dauerinfusion von ^{3}H-Thymidin[x)]

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Joachim Bengeforth
Berlin

x) Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, Aktenzeichen Sto 41/8 und SFB 105, B_4

Referent: Prof. Dr. E. Stöcker

Korreferent: Prof. Dr. I. Schlicht

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am 30.8.1978

Meinen Eltern gewidmet

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
A.	Voraussetzung und Fragestellung	1
B.	Material und Methodik	4
1.	Tiermaterial	4
a)	Kontrollen	4
b)	Versuchstiere	5
2.	Folsäureinjektion	5
3.	Technik der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion	5
4.	Autoradiographische Technik	8
5.	Auswertung der Autoradiogramme	9
6.	^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index	9
7.	Silberkorndichte	10
C.	Ergebnisse	11
1.	Kontrollen, ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index, renale Mesenchymzellen	11
a)	Juvenile Ratten	11
b)	Eben ausgewachsene Ratten	11
2.	Versuchstiere	12
a)	^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index, renale Mesenchymzellen, eben ausgewachsene Ratten, einmalige Folsäuregabe	12
b)	^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index und mittlere Zellzahl pro Blickfeld renaler mesenchymaler Zellen, einmalige Folsäuregabe, Rinde, eben ausgewachsener Ratten	13
c)	^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index und mittlere Zellzahl pro Blickfeld renaler mesenchymaler Zellen, einmalige Folsäuregabe, Mark, eben ausgewachsener Ratten	14
d)	Silberkorndichte, renale Mesenchymzellen, eben ausgewachsener Ratten, einmalige Folsäuregabe	14
D.	Diskussion	16
1.	Mesenchymale, renale Zellproliferation in Kontrollratten differenter Altersstufen	16
a)	Juvenile Tiere	16
b)	Eben ausgewachsene Tiere	18

Seite

2. Mesenchymale renale Zellproliferation nach einmaliger Folsäureapplikation an eben ausgewachsenen Versuchstieren 22

3. Zur Deutung der autoradiographischen Befunde aus proliferationskinetischer Sicht unter besonderer Berücksichtigung des "cell-loss-factors" 27

a) Allgemeine Vorbemerkungen, hypothetische Überlegungen 27

b) Rinde 27

c) Mark 37

d) Silberkorndichte in Rinde und Mark 39

E. Zusammenfassung 43

Tabellen 46

Figuren 55

Abbildungen 64

Literaturverzeichnis 88

A. VORAUSSETZUNG UND FRAGESTELLUNG

Bei der Planung, Durchführung und Auswertung unserer quantitativen autoradiographischen Experimente nach Dauerinfusion von ^{3}H-Thymidin (0-10 d) gingen wir folgender Fragestellung nach:

1. Was läßt sich über den Umfang der mesenchymalen, renalen physiologischen Zellproliferation unter dem Aspekt von Wachstumsvorgängen in den Mesenchymzellen juveniler Ratten (3-3,5 w) und unter dem Aspekt des physiologischen Zellersatzes in eben ausgewachsenen Tieren (2-5 m) aussagen? Dieser Frage gingen wir mit der quantitativen Autoradiographie und ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionen nach und bestimmten dabei das prozentuale Ausmaß an der DNS-Synthese beteiligter Mesenchymzellen der Niere getrennt nach Rinde und Mark.

2. Kann man nach einer singulären i.v.-Applikation von Folsäure (375 mg/kg KG), die bekanntermaßen zu einer erheblichen Gewichts- und Volumenzunahme der Niere führt, welche entweder als Hypertrophie oder Hyperplasie bzw. als Mixtum compositum gedeutet worden ist (Brade 1971; Herken 1971; Oberdisse und Schurig 1971; Schmidt, Dubach und Torhost 1971; Schubert 1971; Threlfall und Taylor 1971; Torhorst, Debros, Thiel und Schmidt 1971; zusammenfassende Darstellung der Arbeiten: Brade, Herken, Merker und Drescher 1968), entsprechende Effekte in den mesenchymalen, renalen Zellen registrieren?

Diese letztere Fragestellung besonders eingehend und detailliert autoradiographisch zu überprüfen, schien uns wiederum aus zweierlei Gründen interessant.

a) In der epithelialen Zellpopulation von Nierentubuli wird nach Folsäure-Gabe eine ganz beträchtliche Steigerung der Zahl an der DNS-Synthese partizipierender Zellen registriert. Hierbei sind nicht nur die Epithelien der in der Rinde situierten Tubulusabschnitte besonders stark engagiert, sondern auch die Epithelien tiefer gelegener, im Mark beheimateter Nephronabschnitte beteiligt (Wullstein, Stöcker und Hübler 1973; Haas 1976; Lambertz 1976, Stöcker 1978). Jedenfalls ist bei bisher quantitativen autoradiographischen Untersuchungen zur kompensatorischen und reparativen Nierenregeneration wie Uninephrektomie, unilateraler temporärer Nierenischämie und 2/3-Nephrektomie eine derartig starke Proliferationssteigerung in den Epithelien tiefer gelegener Nephronabschnitte nie gesehen worden (Lit. bei Stöcker, Schultze, Heine und Liebscher 1972; Heine 1973).

b) Bei der quantitativen autoradiographischen Untersuchung dieser eben erwähnten, Folsäure-induzierten Steigerung des Ausmaßes DNS-synthetisierender Tubulusepithelien, fiel bei der rein visuellen Betrachtung der Autoradiogramme eine ungewöhnlich starke Schwärzung von mesenchymalen Zellen auf, die sich sowohl auf die Rinden- als auch Markabschnitte der Rattenniere erstreckte.

Aus diesen Gründen untersuchten wir quantitativ-autoradio-

graphisch die renale, mesenchymale Zellproliferation nach einmaliger Folsäure-Applikation.

Letztlich sollen die im Nierenmesenchym nach Folsäure-Gabe erhobenen Befunde mit den Daten verglichen werden, die sich an der gleichen Zellpopulation im Verlauf von Wachstumsvorgängen am juvenilen Tier und den Prozessen im Verlauf der physiologischen Zellerneuerung an der eben ausgewachsenen Ratte (siehe oben I.) haben erstellen lassen. Wir wollen auf Grund der erhobenen autoradiographischen Daten darzulegen versuchen, welche Meßdaten man direkt und quantitativ einer vergleichenden Betrachtung unterziehen kann und welche Daten, unter Angabe der Gründe, eine derartige Konfrontation nicht zulassen.

B. MATERIAL UND METHODIK[+)]

1. Tiermaterial

a) Kontrollen

Die von uns verwendeten Kontrolltiere unterteilen sich in juvenile Kontrolltiere und in eben ausgewachsene Kontrolltiere. Dabei dienten uns 11 männliche Albinoratten (Sprague-Dawley) als juvenile Kontrolltiere. Ihr Alter betrug 3-3,5 Wochen, ihr Gewicht 35 bis 70 g (Mittelwert: 52 g), Versuchsnummern (Wü 1289 - 1299).

Die 10 eben ausgewachsenen Kontrolltiere waren ebenfalls männliche Albinoratten (Sprague-Dawley). Sie hatten ein Alter zwischen 2 und 5 Monaten, ein Gewicht zwischen 210 bis 550 g (Mittelwert: 328 g); Versuchsnummern (Wü 1159 - 1163, 2349, 2351 - 2354).

+) Herrn Prof. Dr. H. Ueberberg, Leiter der Abteilung für Experimentelle Pathologie, Dr. Karl Thomae GmbH, Biberach, danken wir für die Überlassung des Versuchstiermaterials.
Herrn Dr. H.-K. Wullstein, Frl. Ch. Kohaut, Frau U. Trautmann, Frl. I. Pfeuffer, Frau J. Sprenger sowie Herrn R. Krug danken wir für die Hilfe bei der Durchführung der Experimente.
Herrn L. Oehring, Institut für Pathologie, FU Berlin, Klinikum Steglitz, möchten wir für die Anfertigung der Mikrophotogramme und der graphischen Abteilung für die photographischen Reproduktionen der Figuren unseren Dank aussprechen.

b) Versuchstiere (Folsäurebehandlung)

Als Versuchstiere (Folsäurebehandlung) verwendeten wir 21 männliche Albinoratten (Sprague-Dawley-Inzuchtstämme FW 49, Firma Dr. Karl Thomae GmbH). Die Tiere hatten ein Alter von 2-3 Monaten, das Gewicht betrug zwischen 325 und 440 g (Mittelwert: 364 g), Versuchsnummern (Wü 3696 - 3716). Die Haltung der Tiere erfolgte unter konstanten Bedingungen: Bis zur Tötung wurden alle Tiere mit Standardfutter Altromin R und Wasser versorgt.

2. Folsäureinjektion

Über einen in die Schwanzvene des Versuchstieres eingeführten Kunststoffkatheter erhielten alle Versuchstiere unmittelbar vor Beginn der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion eine singuläre Folsäureinjektion (Merck, Darmstadt). Die Dosis betrug 375 mg%/kg KG, gelöst in 0,3 M $NaHCO_3$.

3. Technik der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion

Um eine kontinuierliche ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion zu erreichen, wurde folgendermaßen vorgegangen: Über eine in die Schwanzvene der Ratte eingeführte Injektionsnadel wurde ein dünner Polyäthylenkatheter (Firma Braun, Melsungen) eingeführt und bis zur Beckenvene vorgeschoben. Zur Prüfung der Durchlässigkeit und um eine Thrombosierung zu verhindern, wurde der Katheter dabei kontinuierlich langsam mit physiologischer Kochsalzlösung durchspült. Um zu

verhindern, daß der Katheter während der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion von der Ratte zerbissen werden kann, wurde ein Plastikrohr über Katheter und Schwanz geschoben. An seinem anderen Ende war das Plastikrohr an einem Vorratsgefäß befestigt (Schultze, Löbbecke und Maurer 1967, 1968; Löbbekke, Schultze und Maurer 1969), das in Verbindung mit der Dauerinfusionsapparatur steht. Diese Anlage besteht aus einer motorgetriebenen Mikropumpe (Syringe pump, model 355, Sage Instruments INC./New York), die mit konstantem Schub 2 ml/24 h Treibwasser aus einer Rekordspritze über einen Plastikkatheter in einen Gummifingerling preßt (inaktives System), der sich in einem Kunststoffzylinder befindet. Der Kunststoffzylinder ist mit radioaktivem ^{3}H-Thymidin vollständig gefüllt, das durch den sich expandierenden Gummifingerling über den in der Ratte befindlichen Katheter in die Schwanzvene gepreßt wird (aktives System). Die dünne Gummimembran des Fingerlings trennt das inaktive Schubsystem von dem radioaktiven Infusionssystem. Nach der Methode von Eve und Robinson (1963) ist in dem Schubsystem ein sogenannter "Swivel" angebracht. Er besteht aus 2 dicht aufeinanderliegenden, aber frei gegeneinander verschieblichen, luft- und wasserundurchlässigen Teflonscheiben und verbindet den zuführenden Plastikkatheter mit dem zum Vorratsbehälter führenden. Hierdurch ist es der Ratte möglich, sich während der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionszeit frei zu bewegen und sich mit Futter und Wasser selbst zu versorgen. Nach dieser von Stöcker, Wullstein und Bräu (1973) ausführlich dargestellten Technik wird den Ratten kontinu-

ierlich radioaktiv markiertes ^{3}H-Thymidin (mittlere Aktivitätsmenge 2,0 Ci/24 h, spezifische Aktivität 20 Ci/mMol., NEN Boston, Mass., USA) infundiert.
Unmittelbar vor Beginn der Dauerinfusion erhalten die Versuchstiere eine einmalige Folsäureinjektion in einer Dosis von 375 mg%/kg KG, gelöst in 0,3 M $NaHCO_3$ über den Schwanzvenenkatheter. Die Kontrolltiere wurden lediglich mit ^{3}H-Thymidin dauerinfundiert.

Die anschließende ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion erstreckt sich über jeweils 11, 23, 35, 47, 59, 71, 83, 191 und 239 Stunden. Nach Infusionsende wurde der Katheter vom ^{3}H-Thymidin-Vorratsbehälter (Kunststoffzylinder) abgehängt und die im Katheter vorhandene Radioaktivität durch Nachspritzen von physiologischer Kochsalzlösung dem Tier noch zugeführt. Eine Stunde nach Infusionsende wurden die Ratten durch Dekapitation getötet. Die restliche Verfügbarkeit des ^{3}H-Thymidins von ca. 40-60 Minuten (Lit. bei Stöcker 1966; Schultze 1968) wurde dadurch mit ausgenutzt. Die radioaktive Versuchszeit war dementsprechend jeweils eine Stunde länger als die entsprechende Dauerinfusionszeit.

Innerhalb der ersten 4 Tage wurden alle 12 Stunden jeweils zwei Versuchstiere getötet, am 8. Versuchstag ebenfalls 2 und zu Versuchsende am 10. Tag 3.

4. Autoradiographische Technik

Im Anschluß an die Tötung der Tiere erfolgte die Sektion. Beide Nieren wurden längshalbiert und bei + 4° C in neutralem 10 %igem Formalin für 48 Stunden fixiert. Zur Entfernung des freien, d. h. nicht an die Moleküle neugebildeter DNS gebundenen ^{3}H-Thymidins wurde dem Formalin in hoher Konzentration (0,5 - 1,0 mg/ml) inaktives Thymidin zugesetzt. Anschließend wurde über 24 Stunden fließend gewässert. Danach erfolgte die übliche Einbettung in Paraffin über die langsam aufsteigende Alkoholreihe von 70-100 %. Nach Entzug des Alkohols durch 24stündiges Einwirken von Methylbenzoat und 40 Minuten in Benzol wurden die Paraffinblöcke nach Abkühlung in 3-4 µ dicke Schnitte geschnitten, entparaffiniert und auf Objektträger gebracht. Danach wurden die Präparate ein zweites Mal in einer hochkonzentrierten, inaktiven Thymidin-Lösung gewaschen 0,5 - 1,0 mg/ml (1 h). Durch diese Behandlung wird garantiert, daß die später zu beobachtende autoradiographische Schwärzung nur durch das während der Dauerinfusionszeit fest in die neugebildete DNS eingebaute radioaktiv markierte ^{3}H-Thymidin hervorgerufen wird. Um diese autoradiographische Schwärzung zu erreichen, erfolgte nach dem "stripping - film"-Verfahren (Kodak, AR 10) eine Beschichtung der auf dem Objektträger befindlichen Präparate. Vor dieser Beschichtung wurden die Präparate in Chromalaungelatine getaucht, um eine chemische Induktion von Silberkörnern zu verhindern. Zusätzlich wird das Präparat zur Verringerung des Nulleffektes vor der Filmbeschichtung in Kaliumbromidlösung getaucht. Die Exposition

der Autoradiogramme erfolgte in trockener Luft (Drierite) bei + 4° C unter konstanten Bedingungen. Die Expositionszeiten erstreckten sich über einen Zeitraum von 20 bis 100 d. Die Entwicklung und Fixation wurde unter konstanten Bedingungen vorgenommen.

5. Auswertung der Autoradiogramme

Die Autoradiogramme der Kontrolltiere (juvenile und eben ausgewachsene, unvorbehandelte Ratten) und der Versuchsratten wurden in den Mesenchymzellen getrennt nach Rinden-Mark-Anteilen ausgewertet.

6. ^{3}H-Tymidin-Markierungs-Index

Der ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index (d. h. der Prozentsatz der markierten Zellen bezogen auf die ausgezählte Gesamtzellzahl) wurde sowohl bei den Kontrollpräparaten (juvenile und eben ausgewachsene Ratten) als auch bei den mit Folsäure vorbehandelten Tieren (eben ausgewachsene Ratten) bestimmt. Dazu verwendeten wir ein Zeiss-Mikroskop bei tausendfacher Vergrößerung. Mit Hilfe eines Okular-Netz-Mikrometers wurde bei Ölimmersion die mittlere Zellzahl bei 200 durch das Zählquadrat vorgegebenen Flächeneinheiten bestimmt. Dabei wurde gleichzeitig bei jeweils 200 Flächeneinheiten in der Nierenrinde sowie 200 Flächeneinheiten pro Mark die Anzahl der markierten Mesenchymzellen mitbestimmt. Große Anteile sowohl im Bereich der Rinde als auch des

Markes wurden so mäanderförmig durchmikroskopiert und ausgezählt, um einen möglichst repräsentativen Überblick über die an der mesenchymalen Proliferation beteiligten Abschnitte der Niere zu erlangen. Die erhobenen Werte wurden als Kurven graphisch dargestellt. Pro radioaktivem Versuchszeitpunkt liegen bei Kontrollen und Versuchstieren von insgesamt 2400 durch das Zählquadrat vorgegebenen Flächeneinheiten die mittlere Zellzahl und der ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index zugrunde.

7. Silberkorndichte

Wir bestimmten die Silberkorndichte (= Silberkornzahl/μ^2 Kernfläche) bei jeweils gleicher Expositionszeit von 40 d und einer Vergrößerung von 1562. Bei radioaktiven Versuchszeiten von 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 und 10 Tagen wurden von beiden Versuchstieren jeweils 200 (100 pro Rinde und 100 pro Mark) gut angeschnittene Zellkerne okularmikrometrisch vermessen und die Kernfläche nach der Formel $\frac{\pi}{4}$ xlxk (l = Längsdurchmesser, k = Querdurchmesser) bestimmt. Gleichzeitig wurde die Silberkornzahl pro Gesamtkernfläche bestimmt, woraus sich die Silberkorndichte rechnerisch ermitteln läßt.

C. ERGEBNISSE

1. Kontrollen, ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index, renale Mesenchymzellen

a) Juvenile Ratten

Die Figur 1 (zahlenmäßiges Verhalten s. Tab. 3) zeigt den ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index renaler Mesenchymzellen für juvenile (3-3,5 w alte) Kontrollratten getrennt in Rinde (——) und Mark (---) als Funktion der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionslänge. Insgesamt gesehen liegen die Werte für den ^{3}H-Thymidin-Markierungsindex renaler Mesenchymzellen im Mark niedriger als die in der Rinde erhobenen. Zu einigen Meßpunkten sind diese Differenzen vernachlässigbar gering, zu anderen stärker ausgeprägt, belaufen sich aber nur knapp auf den Faktor 2. Nach uncharakteristischen initialen Schwankungen bis zum Tage 4 steigen beide Kurven nach dem 4. Dauerinfusionstag nahezu linear an und erreichen am 10. Infusionstag in der Rinde einen Wert etwas über 35 %, im Mark einen solchen um ca. 25 %.

b) Eben ausgewachsene Ratten

In Analogie zu Figur 1 demonstriert die Figur 2 (zahlenmäßige Daten, s. Tab. 4) den ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index renaler Mesenchymzellen eben ausgewachsener Kontrollratten, neuerlich für Rinde (——) und Mark (---) als Funktion der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionslänge. Im Unterschied zu Figur 1 (juvenile Ratten) sieht man bei den eben ausgewachsenen

Tieren der Figur 2 keinen signifikanten Unterschied mehr in der Höhe des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index zwischen Rinde und Mark. Mal liegen die Werte auf völlig gleicher Höhe, mal prävaliert geringfügig die Rinde, mal geringfügig das Mark. Wiederum kann man initial uncharakteristische Schwankungen registrieren, welche ab dem 4. Dauerinfusionstag in eine ganz gering ausgeprägte lineare Anstiegsgerade münden, welche sowohl in der Rinde als auch im Mark am 10. Infusionstag etwa 12 % erreicht.

2. Versuchstiere (375 mg/kg KG Folsäure)

a) ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index, renale Mesenchymzellen, eben ausgewachsene Ratten

Die Figur 3 a (s. Tab. 5 a) bezieht sich auf die Höhe des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index renaler Mesenchymzellen bei eben ausgewachsenen Ratten in Rinde (——) und Mark (---) als Funktion der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionszeit. Die Figur 3 b stellt die Ergebnisse der globalen Auswertung mit den entsprechenden Abweichungen der ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Indices dar. Sie entspricht im Charakter des Kurvenverlaufs dem der Figur 3 a.

Bei Figur 3 a ergeben sich keine nennenswerten Unterschiede in Rinde und Mark. Beide Kurven steigen ab 0,5 d bis zu 3 d steil und in etwa linear mit der Zeit an und erreichen bei 3 d ein Peak, das sich in der Rinde auf ca. 75 %, im Mark auf 70 % beläuft. Daran schließt sich zum Tage 3,5 ein relativ steiler Abfall an, der in der Rinde etwa 47 %,

im Mark 45 % erreicht. Nachfolgend ergibt sich ein etwas langsamerer zeitabhängiger Anstieg, wobei zunächst das Mark der Rinde gegenüber in Führung tritt. Am 10. Dauerinfusionstag wird der höchste Wert der Markierung mit ca. 87 % in Rinde und Mark registriert.

b) ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index und mittlere Zellzahl pro Blickfeld renaler mesenchymaler Zellen, einmalige Folsäuregabe, Rinde, eben ausgewachsener Ratten

Die Figur 4 (zahlenmäßiges Verhalten s. Tab. 6) zeigt synchronoptisch dargestellt den ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index (linke Ordinate) und die mittlere Zellzahl pro Blickfeld (rechte Ordinate) in Abhängigkeit von der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionslänge für die Rinde (——) ausgewachsener Ratten.

Die mittlere Zellzahl in 1200 Zählquadraten zeigt vom Tage 1,5 auf 2 einen Anstieg von knapp 750 auf 1000, dann vom Tage 2,5 einen Abfall auf 700, anschließend einen ziemlich steilen Anstieg zum 4. Tage auf über 1100, dem ein schwächerer Anstieg zum 8. Tag auf 1200 und dann wiederum ein stärkerer Abfall zum 10. Tag auf 800 folgt.

c) ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index und mittlere Zellzahl pro Blickfeld renaler mesenchymaler Zellen, einmalige Folsäuregabe, Mark, eben ausgewachsener Ratten

Die Figur 5 (Zahlenangaben s. Tab. 7) demonstriert unter den eben geschilderten experimentellen Voraussetzungen die angegebenen Parameter in Abhängigkeit der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionslänge. In der linken Ordinate wurde der Prozentsatz des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index, in der rechten die mittlere mesenchymale Zellzahl pro 200 Zählquadraten aufgetragen.

Die mittlere Zellzahl pro 200 Zählquadraten (···) in den mesenchymalen renalen Zellen des Markes ist im Gegensatz zu den Verhältnissen in der Rinde (vgl. Fig. 4) weitaus geringeren Schwankungen unterworfen. Von 0,5 bis zu 4 Tagen findet man uncharakteristische Schwankungen zwischen über 1050 bis zu 870. Die Meßpunkte von 0,5 und 4 d liegen mit etwas über 1050 auf etwa gleicher Höhe. Nachfolgend fällt die Kurve geringfügig ab, die Zellzahl beläuft sich bei 8 d auf 970 und bei 10 d auf etwas unter 900 Zellen.

d) Silberkorndichte (= SkZ/μ^2 Kernfläche), renale Mesenchymzellen, eben ausgewachsene Ratten, einmalige Folsäuregabe

Die Figur 6 (s. Tab. 8) repräsentiert den Ablauf der Silberkorndichte in bezug auf die in der Überschrift angegebenen Details in Rinde (——) und Mark (---) als Funk-

tion der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionslänge. Von 1 bis 3,5 d treten 2 Peaks bei 1,5 und 3 Tagen und 2 Talwerte bei 2 und 3,5 Tagen in Erscheinung und zwar ganz synchron sowohl in Rinde als auch im Mark. Dabei geht zwischen Talwert und Peak ein Faktor von etwas unter 2, im 2. Peak ein solcher von deutlich über 2 ein. Dies gilt sowohl und völlig synchron geschaltet für die Rinde als auch für das Mark. Von dem Tiefwert von 3,5 d erfolgt zu 10 d Dauerinfusionslänge wieder ein mäßiger Anstieg.

D. DISKUSSION

1. Mesenchymale, renale Zellproliferation in Kontrollratten differenter Altersstufen

a) Juvenile (3-3,5 w alte) Tiere

Wie der Figur 1 zu entnehmen ist, liegt der ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index in den mesenchymalen, renalen Zellen unbehandelter Kontrollratten recht hoch. Es existieren dabei deutliche Unterschiede zwischen den in der Rinde und den im Mark situierten Mesenchymzellen, insofern, als im großen und ganzen in der Rinde fast doppelt so hohe Werte wie im Mark in Erscheinung treten.

Von geringfügigen anfänglichen uncharakteristischen und unbedeutenden Schwankungen abgesehen, steigen beide Kurven - so wie es sein soll - in etwa linear mit der Zeit der Dauerinfusionslänge an. Bei 10 d ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion liegt der ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index in der Rinde etwa bei 35 % und im Mark etwa bei 25 %.

Geht man von der Annahme aus, daß alle oder zumindest die überwiegende Mehrzahl der mesenchymalen, renalen Zellen zur "growth fraction" (Mendelsohn, Dohan und Moore 1960; Mendelsohn 1962; Stöcker und Heine 1971; Stöcker, Schultze, Heine und Liebscher 1972; Stöcker 1975) und demgegenüber kaum oder vernachlässigbar wenige Exemplare dieser Zellpopulation zur "non growth fraction" gehören, so kann man eine grob orientierende, approximative Abschätzung der mittleren Lebensdauer dieser Zellen vornehmen.

Extrapoliert man die gemessenen Kurven des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index unter Zugrundelegung des sich bis 10 d abzeichnenden Steigungswinkels mit der Zeit auf 100 %, so würde dieser Wert bei den Mesenchymzellen in der Rinde bei ca. 28,6 Tagen erreicht werden, während er im Mark demgegenüber bei 40 Tagen läge. Diese beiden Zahlen, 28,6 Tage in der Rinde und 40 Tage im Mark, decken sich dann mit der mittleren Lebensdauer dieser Zellpopulation nach zonaler Gliederung.

Insgesamt gesehen muß man sagen, daß die Mesenchymzellen der Niere von juvenilen Kontrollratten recht hohe Markierungsindices aufweisen. Dies entspricht den allgemeinen Erfahrungen autoradiographischer Untersuchungen in den mesenchymalen Zellen junger, wachsender und alter Ratten. So fanden Schmitt und Beneke (1971), sowie Mohr und Paulini (1975), daß in mesenchymalen Fibroblasten in Abhängigkeit vom Alter der ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index und Mitose-Index abfallen (1, 3, 6 und 12 Monate alte Ratten). Dabei betragen die ^{3}H-TdR-Markierungs-Mitose-Indices eine Woche nach Implantation der Kunststoffschwämmchen folgende Werte: 1 Monat alte Tiere = 32,0 - 5,6 %, 3 Monate alte Tiere = 29,3 - 4,7 %, 6 Monate alte Tiere = 24,4 - 3,7 %, 12 Monate alte Tiere = 20,8 - 2,9 %. Vergleicht man die ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Indices im Mesenchym juveniler Ratten mit denen in den Epithelien von Rattenfoeten am Ende der Tragzeit (Wegener, Hollweg und Maurer 1964; Wegener und Hollweg 1964; Pilgrim, Lennartz, Wegener, Hollweg und Maurer 1965), so ergibt sich, daß die Markierungsindi-

ces in epithelialen Organen des Rattenfoeten etwa in der gleichen Größenordnung mit denen mesenchymaler Fibroblasten juveniler Ratten liegen. Demgegenüber weisen die ^{3}H-Thymidin-Markierungsindices im Epithel juveniler Ratten geringere Werte auf (Stöcker, Teubner und Rosenbusch 1964; Stöcker und Butter 1968; Schneider 1970; vgl. Litvak und Baserga 1964).

Vergleicht man aus den Daten der oben erwähnten Bestimmungen der ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Indices die Situation im tubulären Epithel wachsender Ratten (Stöcker und Butter 1968; Schneider 1970) mit der, die sich in unserem Tiermaterial in den mesenchymalen Zellen der Niere juveniler Ratten (bei 0,5 und 1 d Dauerinfusionslänge Fig. 1, Tab. 3) abzeichneten, so ergibt sich folgende Situation: Der mittlere ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index 2 - 3 Wochen alter juveniler Ratten beläuft sich im tubulären Nierenepithel auf 3,6 %, in unserem Untersuchungsgut mesenchymaler Zellen gleichalter Ratten auf 7,1 %. Demzufolge kann man größenordnungsmäßig sagen, daß die Markierungsindices im Mesenchym etwa um den Faktor 2 zu diesem Zeitpunkt der Wachstumsperioden höher liegen als im Nierenepithel.

b) Eben ausgewachsene (2 - 5 Monate alte) Tiere

Die Figur 2 reflektiert in Analogie zur Figur 1 den ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index von renalen Mesenchymzellen in eben ausgewachsenen (2 - 5 Monate alten) Kontrollratten. Eine Konfrontation der Figuren 2 und 1 zeigt deutlich, daß

in den eben ausgewachsenen Ratten kaum mehr Unterschiede zwischen den in der Rinde und den im Mark erhobenen Werten als Funktion der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionslänge existieren, während - wie schon erwähnt - derartige Differenzen in der wachsenden juvenilen Ratte mit eindeutig höheren Prozentzahlen in der Rinde bemerkbar waren.

Weiterhin sind in der eben ausgewachsenen Ratte (Fig. 2) die Indexwerte wesentlich kleiner als im juvenilen Tier (Fig. 1). Bei 10 d Dauerinfusion beläuft sich die maximale Differenz ungefähr auf den Faktor 3.

Der Anstiegswinkel des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index in den eben ausgewachsenen Ratten ist in den renalen mesenchymalen Zellen im Vergleich zu der Situation in der juvenilen Ratte erheblich flacher. Man kann somit allein aus dem Charakter des Kurvenverlaufes bei wachsenden juvenilen und eben ausgewachsenen Ratten schließen, daß effektiv in den eben ausgewachsenen Tieren die Wachstumsvorgänge ausklingen bzw. im Ausklingen begriffen sind und nunmehr ganz überwiegend der physiologische Zellersatz oder die physiologische Zellerneuerung (Altmann 1966) d. h. die Situation der "steady state"-Proliferation (Stöcker 1966; Schultze 1968) an die Stelle der Wachstumsprozesse getreten ist.

Vergleicht man diese aus unseren Befunden abzuleitenden Feststellungen mit denen, die sich im tubulären Epithel von Ratten unterschiedlichen Alters ergeben haben (Stöcker, Teubner und Rosenbusch 1964; Stöcker und Butter 1968; Schneider 1970, Stöcker, Schultze, Heine und Liebscher

1972; Stöcker 1975), so liegen im Mesenchym und Epithel identische Befunde vor. Denn auch im Tubulusepithel der Rattenniere tritt mit dem Auslaufen der Wachstumsvorgänge die "steady state"-Proliferation ins Spiel, welche dann bis ins hohe Senium (2,5 Jahre) konstant aufrecht erhalten bleibt.

Stellt man die ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Indices von renalen tubulären Epithelien (Schneider 1970) denen in den renalen mesenchymalen Zellen in eben ausgewachsenen Ratten gegenüber, so ergibt sich im Epithel ein Markierungs-Index-Wert von 0,05 % und in den mesenchymalen Zellen ein solcher von 3,3 % (Werte von 0,5 und 1 d Dauerinfusionslänge s. Fig. 2 und Tab. 4). Daraus geht hervor, daß im Stadium der ausgewachsenen Ratte bei der nunmehr erfolgenden "steady state"-Proliferation die Zellerneuerung im Mesenchym knapp 66 Mal höher als die im Epithel ist.

Aus den im wachsenden Tier erhobenen einschlägigen autoradiographischen Daten (vgl. Abschnitt D 1 a) geht hervor, daß hier das Markierungsgefälle zwischen Mesenchymzellen und epithelialen renalen Zellen noch nicht so hoch war und sich auf den Faktor 2 belief, während in unseren einschlägigen Beobachtungen in den eben ausgewachsenen Ratten dieses Gefälle um einen Faktor von 66 von mesenchymalen renalen zu epithelialen Zellen etwa 33 Mal stärker ausgeprägt scheinen.

Stellt man die ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Indices im Mesenchym von Ratten einerseits und im Epithel andererseits noch

einmal zusammenfassend vor, so ergibt sich folgende Situation: Die Höhe der ^{3}H-TdR-Markierungs-Indices in den Epithelien des Rattenfoeten liegen in der gleichen Größenordnung wie die ^{3}H-TdR-Markierungs-Indices in Fibroblasten juveniler Ratten (leider waren uns einschlägige Angaben über die Höhe des ^{3}H-TdR-Markierungs-Index in mesenchymalen Zellen des Rattenfoeten nicht zugänglich).

Im Epithel von Leber und Niere juveniler Ratten ist der Markierungs-Index schon niedriger als im Mesenchym gleichalter Tiere. Die Differenz ist noch gering. Als Funktion des Alters betrachtet, fallen die Indices sowohl im Mesenchym von Fibroblasten, als auch im renalen Mesenchym und im Epithel z. B. der Nierentubuli ab. Dieser altersabhängige Abfall des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index ist allerdings im Mesenchym wesentlich schwächer als im Epithel ausgeprägt. Daraus geht hervor, daß die Differenz zwischen den Markierungs-Indices als Funktion des Alters immer größer werden muß, wenn man das Mesenchym mit dem Epithel konfrontiert.

Worauf diese altersabhängigen Unterschiede der ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Indices im Mesenchym einerseits und im tubulären Epithel der Ratte andererseits basieren, läßt sich noch nicht eindeutig beantworten. Denkbar wäre allerdings, daß der Anteil von mesenchymalen Zellen, die zum "proliferating pool" zählen höher als im Epithel ist, wo zu diesem Zeitpunkt schon deutlich meßbare Werte einer "non growth fraction" im Epithel gleichalter Ratten evident sind (vgl. Stöcker, Schultze, Heine und Liebscher 1972; Stöcker 1975-77).

Selbstverständlich ist es problematisch, ohne Kenntnis der Größe des proliferating pools oder der growth fraction auf der einen und der Größe der non growth fraction auf der anderen Seite, Rückschlüsse aus dem Ablauf des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index nach Dauerinfusion auf die mittlere Lebensdauer zu ziehen. Tun wir dies dennoch mit aller Vorsicht und unter den angeschnittenen Einschränkungen, so ergibt sich, daß der ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index in den renalen, mesenchymalen Zellen eben ausgewachsener Ratten bei 10 d um 12 % liegt, so daß sich die mittlere Lebensdauer dieser Zellen auf näherungsweise 83 Tage belaufen könnte. Der Minderungsfaktor in bezug auf die Höhe des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index im Mesenchym eben ausgewachsener Ratten und die daraus abgeleitete mittlere Generationszeit dieser Zellen bewegt sich um etwas mehr als die Zahl 3. Demgegenüber zeigt sich im Tubulusepithel ein wesentlich stärkeres Gefälle in der Höhe der ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Indices von juvenilen zu eben ausgewachsenen (Stöcker und Butter 1968; Schneider 1970) Ratten, wobei ein Reduktionsfaktor von 66 geltend gemacht werden muß.

2. Mesenchymale renale Zellproliferation nach einmaliger Folsäureapplikation an eben ausgewachsenen Versuchstieren

Die Figur 3 a bezieht sich auf die Situation, welche sich nach einer einmaligen Applikation von Folsäure (i.v.-Injektion von 375 mg/kg KG) ergibt. Aufgetragen ist der mittlere ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index renaler mesenchy-

maler Zellen eben ausgewachsener Ratten als Funktion der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionslänge getrennt für Rinde (——) und Mark (---). Der Kurve ist zu entnehmen, daß die Werte 24 Stunden nach der Folsäureinjektion noch sehr niedrig liegen. Sie bewegen sich nach Tab. 5 a in der Rinde um 2,58 % und im Mark um 19,84 %. Der Mittelwert aus Rinde und Mark beläuft sich auf 11,21 % (s. Fig. 3 b). Der ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index gleichalter und gleichvorbehandelter Folsäure-Tiere beträgt im Tubulusepithel 9,15% (Lambertz 1976). Das Markierungsgefälle zwischen den Markierungsindices in den mesenchymalen, renalen Zellen einerseits und den Tubulusepithelien andererseits, das bei gleichalten Kontrollen noch 66 betrug, existiert jetzt - 24 h nach Folsäureapplikation - schon nicht mehr (11,21% = Mesenchym zu 9,15% = Epithel). Daraus ist zu folgern, daß bereits 1 d nach Folsäureapplikation ein beträchtlicher Anstieg in erster Linie im Epithel der Nierentubuli, in zweiter Linie aber auch schon im Mesenchym der Niere erfolgt sein muß.

Bereits 12 Stunden später, d. h. 1,5 d nach Folsäureinjektion, ergibt sich im Mesenchym ein deutlicher Anstieg des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index, der vor allem im Mark mit Werten um 20 % eindeutig eleviert ist (vgl. Fig. 1 und 2). Nachfolgend stellt sich über die Tage, 1,5; 2; 2,5; bis zu 3 ein steiler und mit der Zeit fast linearer Anstieg der Indices synchron in Rinde und Mark ein, wobei keine erwähnenswerten Differenzen zwischen beiden Zonen einhergehen. Im Peak bei 3 d belaufen sich die Werte in der Rin-

de um 75 % und im Mark um 70 %. Von 3 auf 3,5 d stellt sich dann wiederum synchron in Rinde und Mark ein deutlicher Abfall der Indices bis auf ca. 47 % in der Rinde bzw. 44 % im Mark ein. Dabei ist der Anstiegs- und Abstiegswinkel in der Aszension zum Peak und in der nachfolgenden Deszension von identischer Größe.

Im Anschluß hieran stellt sich neuerlich ein Anstieg der Index-Werte ein, der zunächst im Mark, später in der Rinde etwas steiler erfolgt, insgesamt gesehen jedoch nicht mehr in dem Umfang in Erscheinung tritt wie beim Anlaufen des Peaks von 0,5 auf 3 d.

Bei 10 d ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionslänge und damit gleichzeitig nach ebenso langer Zeit nach der einmaligen Folsäurereinjektion, liegt der ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index in der Rinde und im Mark auf gleicher Höhe und erreicht in beiden Zonen eine Größe von über 87 %. Würde die Kurve mit der Zeit weiter etwa linear ansteigen, so würde rein theoretisch ein Erreichen einer 100 %igen Markierung bei 12,5 d zu erwarten sein.

Konfrontiert man diese am Folsäurematerial gesammelten Daten des mesenchymalen renalen ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index mit denen, die an unbehandelten juvenilen (Fig. 1) und eben ausgewachsenen Kontrollen (Fig. 2) von uns angegeben worden sind, so muß man auf eine außergewöhnlich hohe, das Ausmaß der Zellproliferation in der wachsenden juvenilen Ratte noch mehr als den Faktor 2 überschreitende Mesenchymzellproliferation nach Folsäuregabe schließen. Aus-

gegangen wurde bei dieser Feststellung von den Meßwerten (vgl. Fig. 1), die sich jeweils bei 8 und 10 Tagen in der Rinde des Nierenmesenchyms juveniler Ratten und in Rinde und Mark renaler Mesenchymzellindices nach Folsäureinjektion einstellten (vgl. Fig. 3).

Insgesamt gesehen muß in bezug auf die Quantität an der Proliferation beteiligter Mesenchymzellen sowohl in der Rinde als auch im Mark festgestellt werden, daß die Folsäure zu einer ungewöhnlich kräftigen Anfachung der Zellproliferation im Mesenchym führt. Dabei wird selbst der bekannterweise hohe Proliferationsumfang im Mesenchym wachsender juveniler Ratten weit überschritten.

Auch haben wir bei andersartigen Regenerationssstimuli an der Rattenniere, wie temporäre unilaterale Ischämie, Uninephrektomie sowie 2/3-Nephrektomie (Noltenius und Schellhas 1963; Noltenius, Schellhas und Oehlert 1964; Stöcker 1966; 1967; 1968; Heine 1968, 1971, 1973; Neumann-Redlin 1969; Otto 1970; Schneider 1970; Stöcker und Heine 1971; Giesecke 1971; Malangré 1971, Unger 1971; Wick 1971; Stökker, Schultze, Heine und Liebscher 1972; vgl. dazu Hübner 1964, 1966, 1967) eine derartig schon rein visuell imponierende mesenchymale Zellproliferation nicht in dem Umfang wie nach Folsäure nachweisbar beobachten können. Lediglich nach 2/3-Nephrektomie wurde unmittelbar im Wundrand der Restniere - wo es zu einer Summation und Superposition reparativer und kompensatorischer Regenerationsvorgänge der Niere kam (Malangré 1971) - eine Schwärzung renaler mesen-

chymaler Zellen gesehen, die in der von uns am Folsäure-modell registrierten Größenordnung liegt.

Vergleicht man die in unserem Untersuchungsgut gefundenen ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Indices im Mesenchym der Niere mit solchen, die am identischen Material unter völlig gleichen experimentellen Voraussetzungen im renalen tubulären Epithel der Niere registriert worden sind (Lambertz 1976, Stökker 1978), so kann man die interessante Feststellung treffen, daß der Umfang in der Steigerung der Zellproliferation im Mesenchym der Niere (86 % bei 8 d) selbst stärker als die im Tubulusepithel der Niere ist, wo man 8 d nach Folsäureinjektion einen Maximalwert von 84 % in den Nierentubuli der Zone 2 = stratum subcorticale = innere Rindenschicht, beschrieben hat. Die übrigen ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Indices im Tubulusepithel der Niere beliefen sich nach Lambertz (1976) auf folgende Werte: Zona glomerulosa = 72 %, Stratum labyrinthicum = 72 %, Stratum subcortikale = 84 %, Rinde insgesamt = 78 %, Zona intermedia = 79 %, Zona basalis = 44 %, Mark insgesamt = 62 %, Niere insgesamt = 65 %. Aus diesem Zahlenvergleich geht ganz eindeutig hervor, in welch starkem Umfang die Zellproliferation im Mesenchym durch Folsäure angehoben wird.

3. Zur Deutung der autoradiographischen Befunde aus proliferationskinetischer Sicht unter besonderer Berücksichtigung des "cell-loss-factors"

a) Allgemeine Vorbemerkungen, hypothetische Überlegungen

Eine quantitative Aufschlüsselung der erhobenen autoradiographischen Befunde unter Berücksichtigung proliferationskinetischer Parameter läßt erkennen, daß sich die dabei abspielenden Vorgänge in den mesenchymalen renalen Zellen nach Folsäuregabe ganz offensichtlich komplizierter verhalten, als es zunächst in den Mesenchymzellen unbehandelter Kontrollen unterschiedlicher Altersstufen an eben ausgewachsenen Ratten unter alleiniger Berücksichtigung des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index der Fall zu sein scheint (vgl. D 1 a, b sowie Fig. 1-2).

Um diese folsäurespezifische Situation bezüglich des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index (Fig. 3 a, 3 b) in Mesenchymzellen etwas besser erfassen und ausleuchten zu können, sollen zunächst einige Vorbetrachtungen erfolgen, wobei die Ergebnisse von ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionsexperimenten an epithelialen Zellen der Niere und Leber (Tubulusepithelien, Hepatozyten, Gallengangsepithelien) und unterschiedlichsten Voraussetzungen (Kontrolltiere, Versuchstiere nach Regenerationsreizen) zugrunde gelegt werden.

b) Rinde

Um die im vorangegangenen Abschnitt erhobenen hypothetischen

Überlegungen näher analysieren zu können, möchten wir uns im folgenden zunächst mit dem ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index und der mittleren Zellzahl pro 200 Zählquadraten sowohl in der Rinde (Fig. 4) als auch im Mark (Fig. 5) befassen.

Bislang wurde in dem vorausgegangenen Abschnitt der Diskussion (vgl. S. 24 , Fig. 3 a, 3 b) noch nicht zu dem Phänomen Stellung genommen, daß es nach Folsäureinjektion vom Tage 3 auf 3,5 zu einer beträchtlichen Abnahme des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index kommt, der nachfolgend (4 über 8 auf 10 d) wesentlich langsamer wieder ansteigt als dies anfangs (0,5 über 1; 1,5; 2; 2,5 bis zu 3 d) erfolgt ist. Zwingend stellt sich hier die Frage, wie denn solche Befunde zu deuten sind, da doch aufgrund der experimentellen Anordnung kontinuierlich ^{3}H-Thymidin von gleicher spezifischer Aktivität, in gleicher Konzentration pro infundierter Flüssigkeitsmenge pro Zeiteinheit zugeführt wird. Derartige Phänomene sind bei zahlreichen ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionsexperimenten weder bei Kontrollen - so auch in unserem Material (Fig. 1, 2) - noch nach Regenerationsstimuli wie nach Uninephrektomie, temporärer unilateraler Nierenischämie oder 2/3-Nephrektomie, aber nicht nach singulärer 2/3-Hepatektomie registriert worden (Lit. bei Stöcker 1966 - 1977; Stöcker, Schultze, Heine und Liebscher 1972, Heine 1973). Hier lagen die Verhältnisse so, daß die Kurven der ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Indices zu differenten Zeiten nach dem Beginn der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion, resp. der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion + Regenerationsstimulus mehr oder minder steil und linear mit der Ver-

suchszeit anstiegen, zu differenten Zeiten entweder die 100 %ige Markierungsgrenze oder ein durchaus konstantes Markierungsplateau mit bestenfalls leicht ansteigender, keinesfalls jedoch mit abfallender Tendenz bis zum Versuchsende 10 bis 20 d ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionslänge aufwiesen. Solche Kurven müssen sich ergeben, wenn sich während der radioaktiv überspielten Versuchszeitintervalle kein Zellverlustfaktor, insbesondere kein Zellverlust radioaktiv markierter Zellpopulationen einstellt.

Allerdings imponierten bei etwas komplizierter gelagertem experimentellen Ansatz wie 2/3-Teilhepatektomie während einer akuten CCl_4-Intoxikation (Buhr 1973), 2/3-Teilhepatektomie bzw. Vorliegen einer Thioacetamid-induzierten Zirrhose (Ulbrich 1974), bei Vornahme wiederholter Teilhepatektomien sowohl an juvenilen (Bräu 1976) als auch an senilen Ratten bei gleicher operativer Vorbereitung (Buhr 1973; Bippus, Stöcker und Buhr-Czekay 1976) und schließlich ganz besonders intensiv ausgeprägt nach Applikation von Folsäure im Tubulusepithel der Niere (Lambertz 1976) andersartige Verhältnisse nach ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion als soeben geschildert: Die ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionskurven zeigten initial - ähnlich wie bei den ersterwähnten Versuchsserien wiederum einen Anstieg, der aber vielfach nicht völlig linear verlief. Es entwickelte sich nachfolgend kein markantes konstantes Markierungsplateau, sondern es stellten sich eigentümliche Kurvenverläufe mit wiederholt ansteigender und wieder abfallender Tendenz ein.

Sowohl am Beispiel der repetierten Teilhepatektomien in den Epithelien der Leber als auch ganz besonders eindrucksvoll nach Folsäureinjektion in den Epithelien der Nierentubuli, konnten diese zunächst merkwürdig erscheinenden Befunde nach Hinzuziehung weiterer quantitativer Zellanalysen so gedeutet werden, daß hier ein zeitweilig unterschiedlich stark ausgeprägter Zellverlust radioaktiv markierter Zellpopulationen erfolgt.

Beschränken wir uns auf die Niere nach Folsäureapplikation, so ging aus den autoradiographischen Untersuchungen von Lambertz (1976) sowie Stöcker (1978) hervor, daß man einen Verlust radioaktiv markierter Tubulusepithelien schon rein visuell beweisen konnte, insofern, als man absterbende, im Absterben begriffene, abgestorbene, manchmal auch noch etwas besser erhaltene aber fraglos von der Basalmembran des Tubulus abgelöste Epithelien im Lumen des Harnkanälchen schwimmend antraf. Dabei deckten sich die zeitlichen Intervalle im Abfall des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index, bezogen auf die noch an der Basalmembran haftenden Tubuluszellen mit dem gehäuften Auftreten desquamierter radioaktiv markierter Exemplare vollauf . Auch in unserem Untersuchungsgut kann man im Tubulusepithel einen derartigen Zellverlust autoradiographisch dokumentierten (s. Abb. 1a, 2a-c, 3a, 6).

Während man im Tublusepithel der Niere nach einmaliger Folsäuregabe quasi 3 Zeitpunkte eines gesteigerten Zellverlustes radioaktiv markierter Elemente bei 2,5; 4 und 10 Tagen Versuchsdauer nachweisen konnte (Lambertz 1976, Stöcker

1978), liegen in unserem Untersuchungsgut - also den renalen, mesenchymalen Zellen nach einmaliger Folsäuregabe - etwas einfacher und besser überschaubare Verhältnisse insofern vor, als hier nur ein stärkerer "Zellverlust" im Prozentanteil radioaktiv markierter Elemente nur einmal ins Spiel tritt und zwar nach 3, vielleicht noch nach 4 Tagen.

Während ein "cell-loss-factor" im Tubulusepithel mit einem Verlust radioaktiv markierter Epithelien per vias naturalis, also über das Nephron mit dem Urinstrom durchaus plausibel zu sein scheint, ist dies bei den mesenchymalen Zellen wahrscheinlich komplizierter und schwerer überschaubar. Bereits Brade, Herken und Merker (1968) haben aufgrund lichtmikroskopischer (nicht autoradiographischer) Befunde nach einer einmaligen Folsäureinjektion von in etwa gleicher Größenordnung wie unserer, auf ein vermehrtes Auftreten eigentümlicher mononukleärer Zellen im strömenden Blut aufmerksam gemacht, die ab 2,5 d nach Folsäureinjektion und in der Folgezeit bemerkbar waren.

Diese Befunde konnten wir bestätigen und sahen diese Zellen bei 3; 3,5 und 4 Tagen im strömenden Blut und zwar radioaktiv markiert, wobei sich auch vielfach ebenfalls radioaktiv markierte karyorhektische und karyolytische Strukturen darstellen ließen (s. Abb. 1b, c; 2 b, c; 4 b; 5 a). Gleichzeitig war zu beobachten, daß sich oft in direkter Umgebung des Gefäßes Pulks mesenchymaler, überwiegend radioaktiv markierter Zellen fanden und man manchmal solche Exemplare innerhalb der Wandung solcher Gefäße beobachten konnte (s. Abb.

1 b, c; 2 c; 3 b; 4 a, b).

Diesem Befund zufolge drängte sich der Verdacht auf, daß möglicherweise an der Proliferation partizipierende, infolgedessen radioaktiv markierte Mesenchymzellen der Niere von der Blutgefäßbahn aufgefangen werden und möglicherweise hier zugrunde gehen. Sehr auffällig war bei dieser Beobachtung, daß es zu einer völligen zeitlichen Konkordanz zwischen dem abfallenden ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index, der sich nach Figur 3 a, 3 b (vgl. Tab. 5 a, 5 b) von 3 auf 3,5 d und 4 d um den Faktor 1,6 bewegt und den geschilderten Beobachtungen mit dem Auftreten markierter mononukleärer Elemente in der Gefäßlichtung kommt.

Natürlich haben wir auch die Frage zu prüfen versucht, ob der "cell-loss" der renalen Mesenchymzellen auch dadurch zustande kommen kann, daß lokal im Interstitium der Niere radioaktiv markierte Zellen - zuvor proliferatorisch aktiv - zugrunde gehen. Da aber die radioaktive Markierung der Mesenchymzellen sehr stark ausgeprägt ist (vgl. alle Abb., hohe Silberkorndichte Fig. 6), müßte man damit rechnen, daß innerhalb der kurzen Zeit von einem Tag (3-4 d) durch Zelltod mesenchymaler Elemente viel Radioaktivität freigesetzt und im Interstitium bemerkbar wird. Das ist aber in der Form und speziell in dem zu erwartenden Ausmaß sicherlich nicht ausgeprägt. Zwar sieht man ab und zu eine Gruppe zusammenliegender überwiegend radioaktiv markierter Mesenchymzellen und noch seltener darunter Kernzerfallserscheinungen und wohl hieraus resultierend manchmal wenige Silberkörner nicht an

Kerne gebunden im Interstitium (Abb. 3 c; 5 b) nach diesen Phänomenen muß man aber eingehend suchen. Rein theoretisch müßten sie jedoch in viel stärkerem Ausmaß und Umfang registriert werden können, wenn ein lokaler Zelltod im Mesenchym allein für den abfallenden ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index von 3 auf 3,5 d (vgl. Fig. 3 a, 3 b) verantwortlich wäre. Wie die z. Z. laufenden Untersuchungen unseres Arbeitskreises an Nieren identisch mit Folsäure vorbehandelter Ratten nach rückstandsloser Veraschung und Messung der Tritium-Aktivität im Oxydationswasser erkennen lassen, zeichnen sich folgende Befunde ab: Es ergibt sich ein Kurvenablauf der aufgetragenen Radioaktivität (nCi/g 10^{-3}) als Funktion der Zeit nach Folsäureinjektion, der völlig dem Charakter der Kurven entspricht, die am gleichen Material autoradiographisch im Tubulusepithel (Lambertz 1976, Stökker 1978) und in unserem Material im Mesenchym ergibt (Kittidesdamkerng 1978). Insbesondere ist bei den Untersuchungen von Kittidesdamkerng (1978) ein starker Abfall der Tritiumaktivität pro Gewichtseinheit der Niere von 3 auf 3,5 bis 4 Tage ausgeprägt. Da mit der Gewebsveraschung und der Radioaktivitätsbestimmung im Oxydationswasser auch nicht an Kerne gebundene Aktivität erfaßt wird, dürfte ein solcher Effekt nicht erwartet werden, wenn größere nennenswerte Mengen von Radioaktivität, die von zerfallenen Mesenchymzellen stammen, im Interstitium auftauchen würden.

Bezüglich eines prozentualen Verlustes radioaktiv markierter mesenchymaler Zellen - also definitionsgemäß in bezug

auf die Höhe des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index im Nierenmesenchym - muß aber schließlich noch theoretisch in Erwägung gezogen werden, daß als zusätzliche Möglichkeit ein stärkerer über das Gefäßsystem erfolgender Einstrom nicht markierter, mononukleärer Elemente in das Niereninterstitium stattfindet, wobei dann eine Differenzierung zu Mesenchymzellen in der Niere erfolgt. Dadurch würde quasi der allein autoradiographisch meßbare ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index von Mesenchymzellen "verwässert", da nunmehr im Interstitium nicht markierte Elemente in Erscheinung treten, gezählt werden und somit den prozentualen Anteil radioaktiv markierter Exemplare zwangsläufig reduzieren. Zwei Argumente sprechen dagegen, daß diese geschilderte Hypothese zur Deutung unserer autoradiographischen Befunde eine wesentliche Rolle spielen kann: Das erste Argument ist die Beobachtung, daß die überwiegende Mehrzahl der in der Blutbahn auftretenden mononukleären Elemente (Brade, Herken und Merker 1968) radioaktiv markiert ist. Da man sich nicht vorstellen kann, daß der Organismus beim Austritt solcher Zellen aus der Gefäßbahn ins Niereninterstitium zwischen markierten und nicht markierten Elementen zu unterscheiden vermag, dürften sich keine wesentlichen Minderungen des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index renaler Mesenchymzellen ergeben. Zweitens: Wenn die Depression des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index allein oder auch nur überwiegend Folge eines "Verwässerungseffektes" durch den Einstrom nicht markierter Zellelemente wäre, müßte daraus eine ungewöhnlich starke Vermehrung der mittleren Zellzahl pro Flächeneinheit der Niere zwischen

3 und 3,5 d resultieren. Das ist aber nicht der Fall.

Im folgenden soll zu klären versucht werden, welche der 3 geschilderten Hypothesen die Deutung der abartig verlaufenden ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index-Kurven am wahrscheinlichsten machen kann. Nennen wir der Einfachheit halber die erste Hypothese: "Intravasaler Abstrom mesenchymaler Zellen", die zweite: "Lokaler interstitieller, mesenchymaler Zelluntergang" und die dritte: "Vaskuläre Einstrom-Theorie undifferenzierter Zellen".

Um diesen Fragenkomplexen nachgehen zu können, konfrontierten wir die zonalen ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Indices (Rinde, Mark) mit der zonalen mittleren Zellzahl pro Flächeneinheit der Niere und schließlich die Silberkornzahl pro Flächeneinheit (μ^2) des Mesenchymzellkerns (= Silberkorndichte).

Die Figur 4 zeigt synchronoptisch den bereits besprochenen Ablauf des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index in mesenchymalen Zellen der Nierenrinde (linke Ordinate) sowie die mittlere Zellzahl pro Flächeneinheit der Niere (rechte Ordinate) als Funktion der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionslänge (Abszisse). Die mittlere Zellzahl zeigt bei 2 Tagen einen leichten Gipfel, dann zu 2,5 d einen Abfall, einen neuerlichen steilen Anstieg zum 3. Tag, der zum Tage 3,5 etwas gebremst, dann zum Tage 4 etwa deutlich ausgeprägt in Erscheinung tritt. Die höchste Zellzahl wird bei 8 Tagen mit 1200 registriert, dann ergibt sich ein Abfall auf etwa 800 (10 d).

Prüft man die Daten der Figur 4 - also das synchronoptische

Verhalten des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index mit der mittleren Zellzahl pro Flächeneinheit - unter dem Aspekt der von uns in Erwägung gezogenen 3 Hypothesen in Hinblick auf Zellverlustphänomene, so zeichnet sich folgendes ab. Die zweite Hypothese - d. h. die des örtlichen Untergangs radioaktiv markierter Mesenchymzellen - kann nicht in Betracht kommen, denn dann müßte mit abfallendem ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index auch die mittlere Zellzahl abnehmen, das Gegenteil ist der Fall.

Auch bei einem alleinigen Abstrom radioaktiv markierter und möglicherweise zugrunde gehender renaler Mesenchymzellen über das Blutgefäßsystem müßte die mesenchymale Zellzahl vom 3. Tage abfallen. Zwar wird sie in ihrer Aszension von 3 auf 3,5 Tagen behindert, aber ein echter Abfall tritt nichts ins Spiel.

Auch die dritte theoretische Überlegung zur Deutung des abfallenden ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index durch Einströmen undifferenzierter Zellen aus der Blutbahn in das Niereninterstitium kann die Kurvenabläufe als allein entscheidender Faktor nicht erklären. Die Berechnungen ergaben, wobei wir von der Annahme ausgingen, daß nur unmarkierte Zellen aus der Blutbahn in das Mesenchym integrieren, daß die Zellzahl von 3 auf 3,5 Tage auf etwa 1400 pro Flächeneinheit ansteigen müßte, in Wirklichkeit nimmt sie nur von knapp unter 900 auf knapp über 900 zu (Fig. 4, Tab. 6). Nimmt man darüber hinaus an, was physiologisch wäre (vgl. S. 34), daß markierte und unmarkierte aus dem Gefäßsystem in das Interstitium ein-

wandern, müßte die Zellzahl erheblich über 1400 liegen, um den Abfall des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index mesenchymaler Zellen in der Rinde von 75 % auf 47 % (3 bis 3,5 d) erklären zu können.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß aufgrund der vorgewiesenen Befunde keine der 3 erwähnten Hypothesen für sich allein eine Geltungsberechtigung ergeben kann. Die zweite Hypothese des örtlichen Zelltodes scheidet aus den oben erwähnten Überlegungen gänzlich aus. Zu einer suffizienten Deutung der Kurven muß man annehmen, daß einmal ein stärkeres Abwandern markierter mesenchymaler Zellen (Hypothese 1) und zum anderen ein schwächerer Einstrom markierter und unmarkierter Zellen aus der Blutbahn in das Interstitium der Nierenrinde stattfindet (Hypothese 3).

c) Mark

Die Figur 5 zeigt in Analogie zur Figur 4 die eben in der Nierenrinde skizzierte Situation für die Verhältnisse des Mesenchyms im Nierenmark. Die Darstellung der Kurven für ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index und mittlere Zellzahl pro Flächeneinheit erfolgte genau wie in Figur 4, so daß an dieser Stelle auf eine Repetition verzichtet werden kann. Lediglich die Symbole (^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index ---, mittlere Zellzahl pro 200 Zählquadraten ...) sind etwas anders gewählt.

Der Abfall des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index der anhand der Figur 3 a, 3 b (vgl. Abschnitt D 3 b) bereits näher disku-

tiert wurde, kommt zwischen 3 und 3,5 Tagen deutlich zum Ausdruck. Im Gegensatz zu den Verhältnissen im Niereninterstitium der Rinde, zeichnet sich hinsichtlich der Zellzahl pro Flächeneinheit kein echter und interpretierbarer Effekt ab. Es ergeben sich nur uncharakteristische Schwankungen, die sich zwischen 850 und 1050 bewegen (Fig. 5, Tab. 7).

Entsprechend der Überlegungen, die aufgrund der Kurvenabläufe schon im vorausgegangenen Abschnitt für die Rinde gemacht wurden, kann man folgende Feststellungen treffen. Die Hypothese 1 (Abstrom markierter, dabei absterbender Mesenchymzellen) kommt wegen einer fehlenden Abnahme der Zellzahl pro Flächeneinheit zwischen 3 und 3,5 Tagen nicht als alleiniger Faktor in Betracht.

Aus dem gleichen Grunde - nämlich der fehlenden Reduktion der Zellzahl innerhalb des gleichen Zeitintervalles entfällt die Hypothese 2 (örtlich mesenchymaler Zelltod).

Auch die Hypothese 3 (Einwandern undifferenzierter Zellen in das Nierenmesenchym) kann wegen des Unterbleibens einer theoretisch zu erwartenden Zellzahlzunahme (vgl. S. 36) keine alleine entscheidende Rolle spielen. Man muß also in bezug auf die Vorgänge des Nierenmarkes - sowie in denen der Nierenrinde - schließen, daß die Vorgänge als eine Art Mixtum compositum aus der Abstrom-Einstrom-Theorie (Hypothese 1 und 3) zu deuten sind.

d) Silberkorndichte in Rinde und Mark

Die Figur 6 repräsentiert das Verhalten der Silberkorndichte (SkZ/μ^2 Kernfläche) renaler Mesenchymzellen als Funktion der Zeit nach Folsäuregabe und gleichzeitig als Funktion der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionslänge in der Rinde (——) und im Mark (---).

Der Figur ist eindeutig zu entnehmen, daß zwischen einem bis zu 3,5 d zwei Gipfel und zwei Täler im Kurvenablauf, und zwar synchron in Rinde und Mark beobachtet werden. Dabei geht mit gewissen Schwankungen jeweils zwischen Tal und Peak resp. umgekehrt angenähert der Faktor 2 ein. Diese schrittweise und nach einem gewissen System erfolgenden Schwankungen der Silberkorndichte sind nur so zu erklären, daß bis zum Tage 3,5 für sehr viele - wenn nicht für die meisten - Mesenchymzellen in Rinde und Mark der Generationszyklus zweimal durchlaufen wird. Der Abfall der Silberkorndichte resultiert aus einer Halbierung der Radioaktivität auf die entstandenen Tochterzellen, z. B. von 1,5 auf 2 d. Der neuerliche Anstieg von 2 auf 2,5 d, der etwas stärker ist als bei 1,5 d, besagt, daß postmitotisch geschwärzte Mesenchymzellen neuerlich in die S-Phase eintreten und dann verständlicherweise im 2. Gipfel eine etwas höhere Silberkorndichte als im 1. Gipfel aufweisen. Von 2,5 über 3 nach 3,5 d wird dann postmitotisch die Silberkorndichte wieder näherungsweise halbiert und steigt zu 10 d nochmal deutlich aber nicht um den Faktor 2 an. Das beinhaltet, daß zwischen 3,5 und 10 d ein nicht unbeträchtlicher Anteil von Mesen-

chymzellen, die bereits den Generationszyklus bis zu 3,5 d ein- oder zweimal durchlaufen hatten, nochmals in denselben eintreten.

Vergleichen wir die Figur 6 mit der Figur 3, so muß man sagen, daß das Peak des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index bei 3 d in keiner Weise einen Schluß auf die Größe des proliferating-pools, also auf die Größe proliferationsbereiter und proliferationsfähiger Mesenchymzellen schließen läßt, da nach der Silberkorndichte bis zum 3. Tage des Versuches der Generationszyklus regenerationsbereiter Zellen vielfach schon zweimal und zwar von ein und demselben Zellstamm durchlaufen wurde.

Auch der höchstgemessene Wert bei 10 d kann somit nicht als Aussage für den Umfang des proliferating-pools der Mesenchymzellen dienen, da auch hier zumindest häufiger der Generationszyklus neuerlich passiert wurde.

Wir hatten bereits in Abschnitt D 3 b kurz erwähnt, daß für eine Reihe einfacher gelagerter autoradiographischer Experimente solche Phänomene nicht ins Spiel treten und hier direkt aus der Höhe des mehr oder minder konstanten Markierungsplateaus Schlüsse auf den Umfang der growth-fraction und indirekt über die Größe der non-growth-fraction gezogen werden können. Mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit treffen diese Voraussetzungen in unserem Untersuchungsgut auf die Studien im Mesenchym der Niere wachsender juveniler Ratten und auf die interstitiellen Zellen während der

physiologischen Zellerneuerung in eben ausgewachsenen Tieren zu. Man kann also in etwa aus der Höhe des Markierungsplateaus Rückschlüsse auf das Ausmaß des proliferating-pools und aus der Distanz zwischen prozentualer Markierungshöhe und dem 100 %-Wert Rückschlüsse auf den Umfang der non-growth-fraction ziehen (Fig. 1, 2, Stöcker 1970-75).

Bei unseren Folsäure-Versuchstieren liegen indessen diese Verhältnisse ganz anders, wie bereits ausführlich diskutiert worden ist (vgl. S. 31 , 39). Ein mehrfaches Durchlaufen des Generationszyklus und Zellverlustphänomene machen eine Art der Betrachtung, wie soeben für die Kontrollen angestellt, unmöglich. Man kann wohl sagen, daß ganz grob geschätzt die Proliferation in den mesenchymalen Zellen der Niere wachsender juveniler Tiere etwa 3mal größer ist als die in eben ausgewachsenen Ratten (vgl. Fig. 1 und 2).

Keinesfalls jedoch darf man aus den oben erwähnten Gründen die Figur 3, also die Kurve der Versuchstiere, mit denen der Kontrollkollektive direkt konfrontieren und quantitativ in eine Beziehung setzen.

Für eine nicht unerhebliche Menge komplizierter gelagerter experimenteller Ansätze treffen schon aufgrund vorausgegangener Untersuchungen diese einfachen Überlegungen nicht mehr zu (Lit.: Buhr 1973; Stöcker, Wullstein und Bräu 1973; Kipping 1974; Bräu 1976; Buhr-Czekay 1976; Lambertz 1976; Stöcker 1976, 1978).

Subsumierend muß man gerade in Hinblick auf die Folsäure,

und zwar sowohl am Epithel der Nierentubuli (Lambertz 1976; Stöcker 1978) als auch aufgrund unserer Untersuchungen am Mesenchym feststellen, daß hier in bezug auf die echte Höhe des proliferating-pools (Stöcker 1975) sehr schwer überschaubare Verhältnisse vorliegen, die bei Anwendung der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionstechnik keinesfalls allein durch die einfache Bestimmung des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index erkannt werden können und es ist unbedingt erforderlich, um die Komplexität proliferationskinetischer Phänomene, die am Beispiel der Folsäure in Zellverlustphänomene und mehrfaches Durchlaufen des Generationszyklus münden, erfassen zu können, zusätzliche quantitative autoradiographische und karyometrische Verfahren heranzuziehen.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Die Proliferation mesenchymaler Zellen in Nierenrinde und Nierenmark wurde mit Hilfe der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionstechnik quantitativ-autoradiographisch in 3 Versuchsserien getestet:

a) In unbehandelten Kontrollen und zwar in wachsenden juvenilen (3-3,5 Wochen alten) Ratten.
b) In unbehandelten Kontrollen und zwar an eben ausgewachsenen (2-5 Monate alten) Tieren.
c) In eben ausgewachsenen Ratten nach einmaliger i.v.-Injektion von Folsäure (375 mg/kg KG).

Als Versuchsgut dienten männliche Sprague-Dawley-Ratten. Die ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionszeit erstreckte sich in allen 3 Versuchskollektiven auf 0 bis 10 d Länge.

Folgende Ergebnisse wurden gewonnen:

1. In der wachsenden juvenilen Ratte (Kontrolltiere) ist ein recht hoher ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index in den Mesenchymzellen der Niere vorhanden, der in der Rinde größere Werte als im Mark aufweist. Bei unserer Versuchsanordnung sind in der Rinde maximal ca. 35 % und im Mark ca. 25 % radioaktiv geschwärzter Mesenchymzellen angetroffen worden.

2. Die eben ausgewachsenen Ratten (Kontrolltiere) zeigen demgegenüber einen bereits wesentlichen Minderungsfaktor von ca. 3 in der prozentualen radioaktiven Markierung. Sie ist in Rinde und Mark von gleicher Höhe. Bei unserer

Versuchsanordnung werden maximal etwas über 10 % markierte Mesenchymzellen angetroffen.

3. Nach Folsäureinjektion zeigt sich im Nierenmesenchym eben ausgewachsener Ratten ein steiler Anstieg des ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index. Am 3. Versuchstag findet man einen ersten Gipfel (75 % in der Rinde, ca. 70 % im Mark). Nach einem steilen Abfall der Indices von 3 auf 3,5 Tage steigen sie dann etwas langsamer zu 10 Tagen an. Nennenswerte Differenzen zwischen Rinde und Mark existieren nicht. Die gemessenen Maximalwerte belaufen sich auf etwa 87 % (10 d).

4. Mit Hilfe einer quantitativen Analysierung der mittleren Zellzahl pro Flächeneinheit der Niere, der Silberkorndichte in synchronoptischer Gegenüberstellung, führen zu der Feststellung, daß die Proliferationskinetik auch im Mesenchym der Niere kompliziert ist. Es werden sichere Anhaltspunkte dafür gewonnen, daß einerseits Phänomene des Zellverlustes und zum anderen solche eines mehrfachen Durchlaufens des Generationszyklus ins Spiel treten.

5. Die unter Abschnitt 4 geschilderten Punkte machen es verständlich, daß man eine direkte quantitative Konfrontation der Kontrollserien, wo solche Beobachtungen nicht getroffen worden sind, mit den Folsäuretieren nicht vornehmen kann. Insgesamt gesehen lassen sich jedoch die Befunde an den Folsäureratten dahingehend interpretieren, daß diese Substanz nicht nur im Epithel, sondern auch

im renalen Mesenchym eine beträchtliche Steigerung der Zellproliferation bewirkt.

Tabelle 1:
Kontrolltiere
Radioaktive Versuchszeit (T_{rad}), ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionszeit, Gewicht der Tiere, Alter der Tiere, Aktivitätsdosis ^{3}H-Thymidin (mCi).

Versuchstier Nr.	T_{rad} Std. (d)	Dauerinfusionszeit (Std.)	Gewicht (g)	Alter	Aktivitätsdosis (mCi)
a) Juvenile Ratten					
1289	12 (0,5)	11	39	3 w	0,6
1290	24 (1,0)	23	35	3 w	1,5
1291	36 (1,5)	35	40	3,5 w	2,2
1292	48 (2,0)	47	58	3 w	3,2
1293	60 (2,5)	59	35	3 w	3,5
1294	72 (3,0)	71	70	3,5 w	4,4
1295	96 (4,0)	95	65	3 w	6,2
1296	120 (5,0)	119	57	3 w	7,5
1297	144 (6,0)	143	62	3 w	9,1
1298	168 (7,0)	167	55	3 w	11,1
1299	240 (10,0)	239	60	3 w	14,9
b) Eben ausgewachsene Ratten					
1160	12 (0,5)	11	210	2 m	1,0
1159	24 (1,0)	23	210	2 m	1,9
2351	24 (1,0)	23	360	5 m	1,0
1163	36 (1,5)	35	270	2 m	2,5
1161	48 (2,0)	47	285	3 m	3,4
1162	60 (2,5)	59	220	2 m	3,4
2352	72 (3,0)	71	420	5 m	6,6
2353	96 (4,0)	95	400	5 m	4,05
2349	192 (8,0)	191	550	4 m	8,6
2354	240 (10,0)	239	350	5 m	10,4

Tabelle 2
Versuchstiere (Folsäurevorbehandlung mit 375 mg/kg KG)
Radioaktive Versuchszeit (T_{rad}), ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionszeit, Gewicht der Tiere, Alter der Tiere, Aktivitätsdosis ^{3}H-Thymidin (mCi)

Versuchstier Nr.	T_{rad} Std. (d)	Dauerinfusionszeit (Std.)	Gewicht (g)	Alter (m)	Aktivitätsdosis (mCi)
3708	12 (0,5)	11	365	2-3	1,0
3709	12 (0,5)	11	415	2-3	1,0
3696	24 (1,0)	23	370	2-3	2,0
3697	24 (1,0)	23	385	2-3	2,0
3710	36 (1,5)	35	440	2-3	3,0
3711	36 (1,5)	35	390	2-3	3,0
3698	48 (2,0)	47	365	2-3	4,0
3699	48 (2,0)	47	360	2-3	4,1
3712	60 (2,5)	59	350	2-3	5,0
3713	60 (2,5)	59	365	2-3	5,0
3700	72 (3,0)	71	330	2-3	6,0
3701	72 (3,0)	71	345	2-3	6,0
3707	84 (3,5)	83	360	2-3	7,0
3714	84 (3,5)	83	355	2-3	7,0
3702	96 (4,0)	95	340	2-3	8,0
3703	96 (4,0)	95	330	2-3	8,0
3704	192 (8,0)	191	350	2-3	16,0
3705	192 (8,0)	191	325	2-3	16,1
3715	240 (10,0)	239	390	2-3	20,0
3716	240 (10,0)	239	365	2-3	20,0
3706	240 (10,0)	239	345	2-3	20,0

Tabelle 3
^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index, renale Mesenchymzellen, juvenile Ratten-Kontrollen

T_{rad} (d)	^{3}H-TdR-Mark.-Index (Rinde)	Mittelwert	^{3}H-TdR-Mark.-Index (Mark)	Mittelwert
0,5	11,95	12,94	4,47	5,62
0,5	13,92		6,67	
1,0	6,91	6,14	3,32	3,8
1,0	5,36		4,28	
1,5	11,21	11,02	0,53	1,73
1,5	10,82		2,92	
2,0	9,24	8,86	7,28	7,62
2,0	8,47		7,95	
2,5	19,62	18,0	5,09	5,67
2,5	16,38		6,25	
3,0	7,22	6,32	4,88	5,33
3,0	5,42		5,78	
4,0	15,58	14,31	8,6	8,09
4,0	13,04		7,57	
5,0	29,69	30,30	19,54	16,81
5,0	30,90		14,07	
6,0	33,36	35,09	22,36	20,68
6,0	36,81		18,99	
7,0	38,14	36,41	38,42	27,1
7,0	34,67		15,78	
10,0	38,15	35,73	23,89	25,05
10,0	33,31		26,21	

Tabelle 4
^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index, renale Mesenchymzellen, eben ausgewachsene Ratten-Kontrollen

T_{rad} (d)	^{3}H-TdR-Mark.-Index (Rinde)	Mittelwert	^{3}H-TdR-Mark.-Index (Mark)	Mittelwert
0,5	2,81	3,33	2,74	2,6
0,5	3,84		2,46	
1,0	5,03	3,88	3,64	2,31
1,0	2,73		0,98	
1,5	7,94	8,44	6,11	5,84
1,5	8,93		5,57	
2,0	3,99	3,99	3,62	3,39
2,0	3,99		3,15	
2,5	10,42	10,78	9,72	10,32
2,5	11,14		10,91	
3,0	4,55	3,44	3,13	4,65
3,0	2,33		6,17	
4,0	10,02	9,97	12,60	10,29
4,0	9,91		7,97	
8,0	9,86	8,48	8,86	10,69
8,0	7,10		12,52	
10,0	14,08	12,32	15,36	12,06
10,0	10,56		8,75	

Tabelle 5 a
^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index renale Mesenchymzellen, eben ausgewachsene Ratten, einmalige Folsäuregabe (Rinde und Mark)

T_{rad} (d)	^{3}H-TdR-Mark.-Index (Rinde)	Mittelwert	^{3}H-TdR-Mark.-Index (Mark)	Mittelwert
0,5	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	0,00		0,00	
1,0	3,80	2,58	22,26	19,84
1,0	1,36		17,42	
1,5	2,71	16,67	1,11	19,77
1,5	30,62		38,43	
2,0	32,67	39,06	31,09	30,75
2,0	45,45		30,40	
2,5	50,14	47,94	54,16	44,23
2,5	45,74		34,30	
3,0	45,57	75,09	58,72	68,99
3,0	104,61		79,26	
3,5	56,44	47,0	42,39	43,81
3,5	37,55		45,23	
4,0	45,11	48,34	46,79	64,48
4,0	51,57		82,17	
8,0	79,82	86,15	84,99	78,68
8,0	92,47		72,36	
10,0	89,89	87,75	93,59	87,1
10,0	97,29		104,27	
10,0	76,08		63,44	

Tabelle 5 b
^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index, renale Mesenchymzellen,
eben ausgewachsene Ratten, einmalige Folsäuregabe (Global)

T_{rad} (d)	^{3}H-TdR-Mark.-Index (Rinde)	^{3}H-TdR-Mark.-Index (Mark)	^{3}H-TdR-Mark.-Index (Global)
0,5	0,00	0,00	0,00
1,0	2,58	19,84	11,21
1,5	16,67	19,77	18,22
2,0	39,06	30,75	34,91
2,5	47,94	44,23	46,09
3,0	75,09	68,99	72,04
3,5	47,0	43,81	45,41
4,0	48,34	64,48	56,41
8,0	86,15	78,68	82,42
10,0	87,75	87,1	87,43

Tabelle 6
^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index und mittlere Zellzahl, renale Mesenchymzellen, eben ausgewachsene Ratten, einmalige Folsäuregabe (Rinde)

T_{rad} (d)	mittl. Zellzahl/ 200 Zählquadraten (Rinde)	^{3}H-TdR-Mark.-Index (Rinde)	Mittelwert (Rinde)
0,5	868	0,00	
0,5	868	0,00	0,00
1,0	736	3,80	
1,0	736	1,36	2,58
1,5	738	2,71	
1,5	738	30,62	16,67
2,0	1001	32,67	
2,0	1001	45,45	39,06
2,5	704	50,14	
2,5	704	45,74	47,94
3,0	889	45,57	
3,0	889	104,61	75,09
3,5	932	56,44	
3,5	932	37,55	47,0
4,0	1115	45,11	
4,0	1115	51,57	48,34
8,0	1209	79,82	
8,0	1209	92,47	86,15
10,0	811	89,89	
10,0	811	97,29	87,75
10,0	811	76,08	

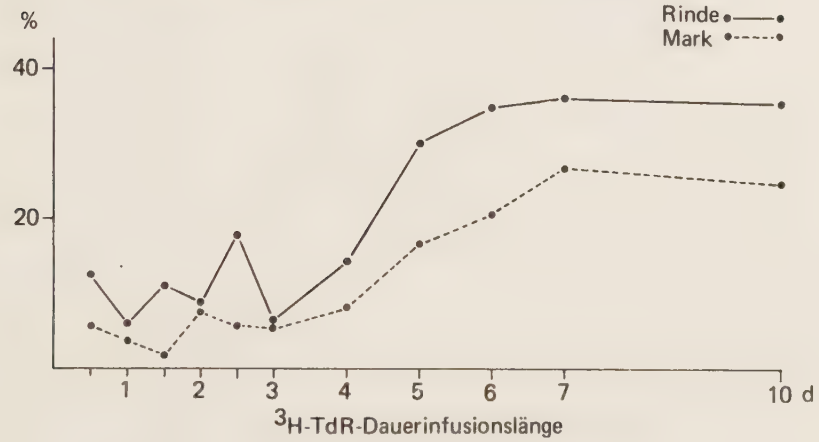
Tabelle 7
^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index und mittlere Zellzahl, renale Mesenchymzellen, eben ausgewachsene Ratten, einmalige Folsäuregabe (Mark)

T_{rad} (d)	mittl. Zellzahl/ 200 Zählquadraten (Mark)	^{3}H-TdR-Mark.-Index (Mark)	Mittelwert (Mark)
0,5	1064	0,00	0,00
0,5	1064	0,00	
1,0	867	22,26	19,84
1,0	867	17,42	
1,5	903	1,11	19,77
1,5	903	38,43	
2,0	1023	31,09	30,75
2,0	1023	30,40	
2,5	962	54,16	44,23
2,5	962	34,30	
3,0	998	58,72	68,99
3,0	998	79,26	
3,5	986	42,39	43,81
3,5	986	45,23	
4,0	1060	46,79	64,48
4,0	1060	82,17	
8,0	966	84,99	78,68
8,0	966	72,36	
10,0	889	93,59	
10,0	889	104,27	87,1
10,0	889	63,44	

Tabelle 8
Silberkorndichte (Skž/μ^2), renale Mesenchymzellen, eben ausgewachsene Ratten, einmalige Folsäuregabe (Rinde und Mark)

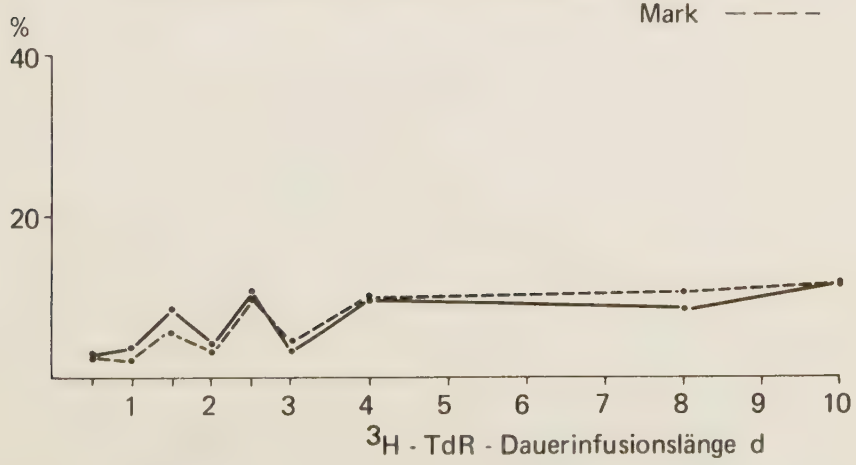
T_{rad} (d)	Silberkorndichte (Rinde)	Mittelwert (Rinde)	Silberkorndichte (Mark)	Mittelwert (Mark)
1,0	1,56	1,55	1,31	1,4
1,0	1,54		1,48	
1,5	2,66	2,59	2,16	2,27
1,5	2,52		2,37	
2,0	1,81	1,82	1,36	1,44
2,0	1,82		1,52	
2,5	3,48	3,43	3,13	2,99
2,5	3,37		2,85	
3,0	1,85	2,21	1,61	2,03
3,0	2,56		2,45	
3,5	1,66	1,73	1,25	1,34
3,5	1,80		1,42	
10,0	2,40	2,56	1,63	2,02
10,0	2,86		2,19	
10,0	2,42		2,23	

^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index, renale Mesenchymzellen, juvenile Ratten-Kontrollen.

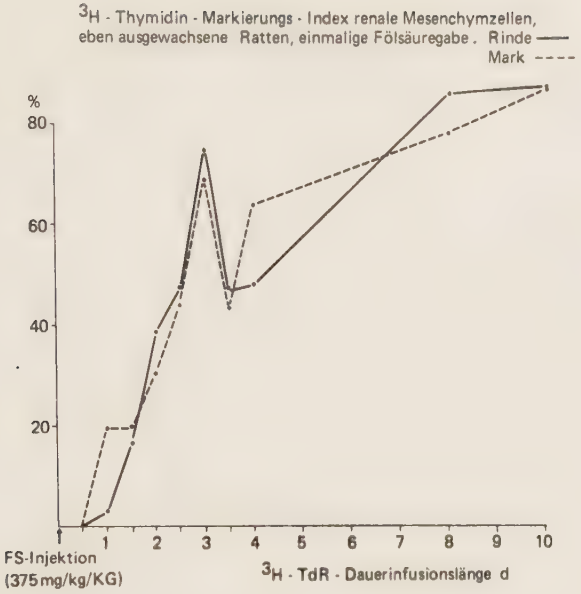


Figur 1

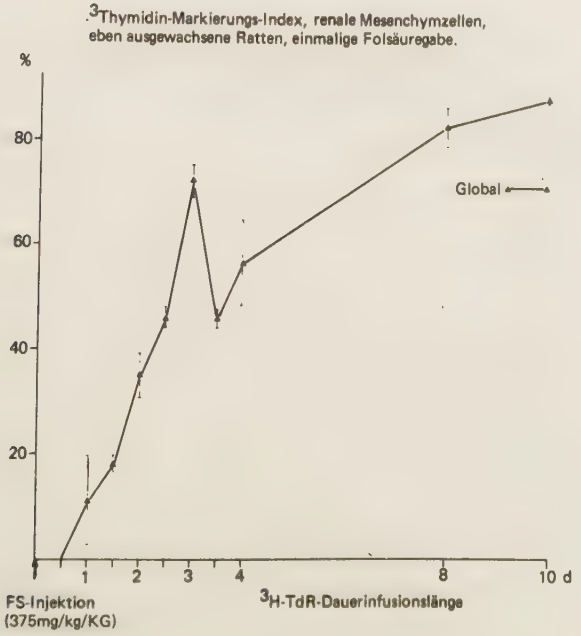
^{3}H - Thymidin - Markierungs - Index, renale Mesenchymzellen, eben ausgewachsene Ratten - Kontrollen. Rinde ——— Mark – – – –



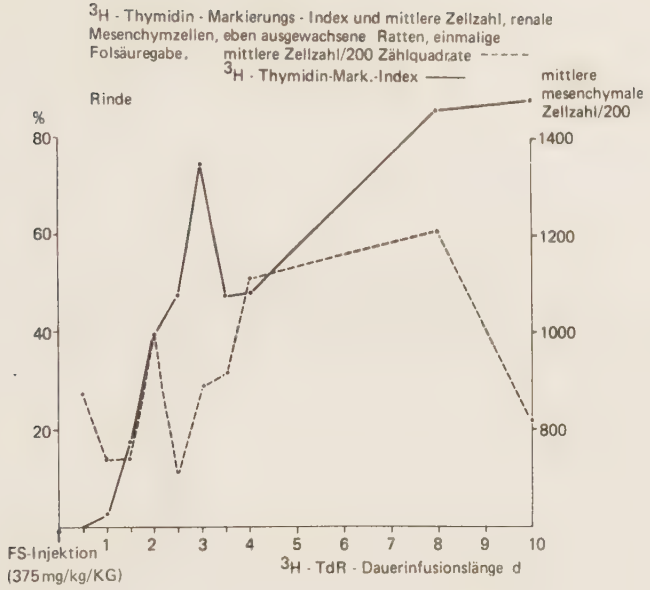
Figur 2



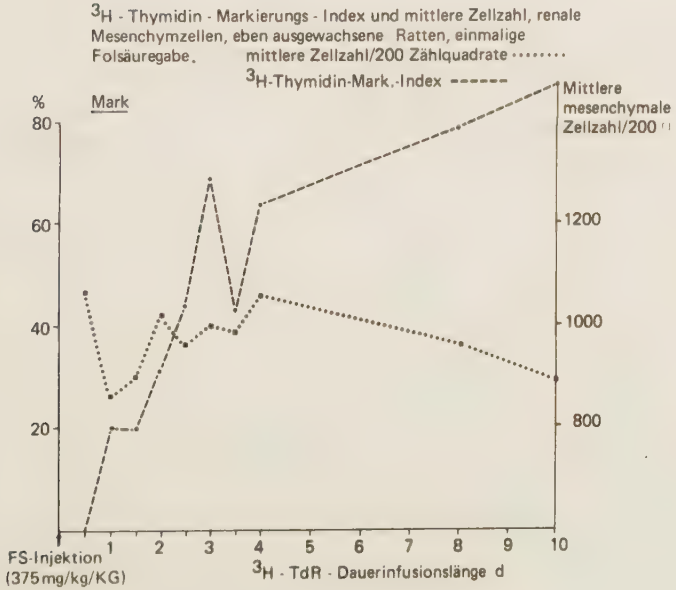
Figur 3 a



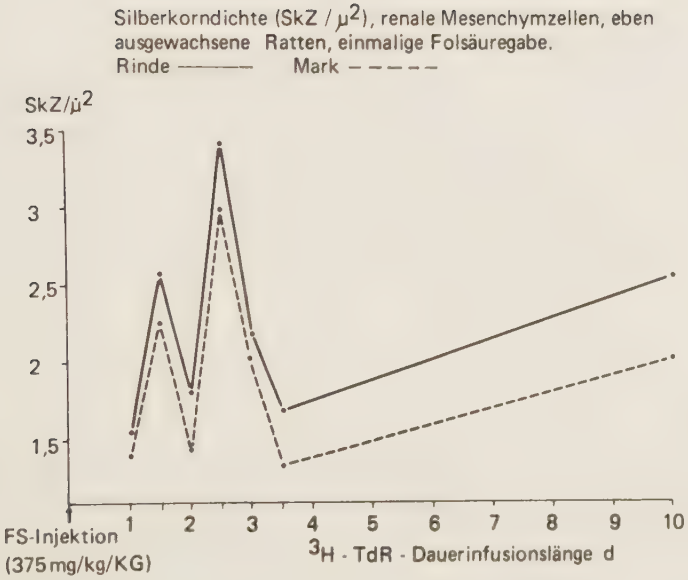
Figur 3 b



Figur 4



Figur 5


Silberkorndichte (SkZ / μ^2), renale Mesenchymzellen, eben ausgewachsene Ratten, einmalige Folsäuregabe.
Rinde ———— Mark – – – – –
SkZ/μ^2
3,5
3
2,5
2
1,5
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
FS-Injektion (375 mg/kg/KG)
^{3}H - TdR - Dauerinfusionslänge d

Figur 6

Legende zu

Abb. 1 a - c, Abb. 2 a - c

Nachgefärbte Autoradiogramme, Rattenniere 3 d nach einmaliger intravenöser Folsäureinjektion (375 mg/kg KG), 3 d ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion: Zahlreiche markierte Tubulusepithelien, vereinzelte Zelldesquamationen mit degenerativen Kernalterationen, vielfach markiert in allen Einstellungen, daneben intratubulär homogen, im gefärbten Präparat (eosinophile) Eiweißmassen. Mesenchymzellen überwiegend sternförmig bis spindelig (vor allem 1 b, c; 2 b, c). Noch keine nennenswerten Nekrosen. Ganz vereinzelt intravasal mononukleäre Elemente mit pyknotischem Kern (Abb. 1 a, b; Abb. 2 - c), partiell markiert. Kerne dieser intravasalen monocytären Elemente meist plump-ovalär, selten schlank-ovalär, vielfach auch schon komplett bis inkomplett abgerundet. Größenverhältnis der monocytoiden Gebilde zu Erythrocyten wie drei zu eins (bes. Abb. 1 b, 1 c und 2 b, c, approximativ visuell). Sowohl innerhalb epithelialer als auch mesenchymaler Zellpopulationen Mitosen. Alle darstellbaren Kernteilungsfiguren radioaktiv markiert.

Vergrößerung: Abb. 1 a = 630fach Abb. 2 a = 275fach
Abb. 1 b = 630fach Abb. 2 b = 475fach
Abb. 1 c = 1000fach Abb. 2 c = 630fach

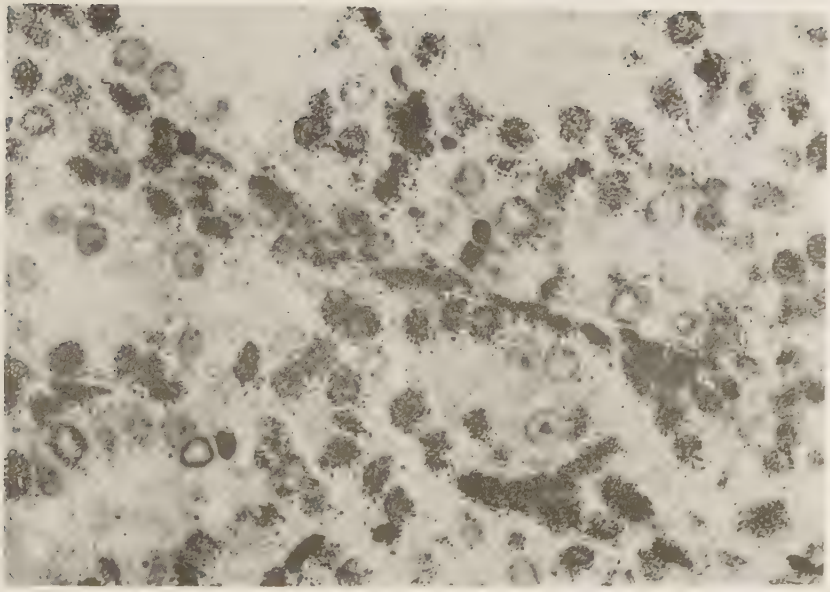


Abb. 1a Vergrößerung: 1:630
Legende s. Seite 64

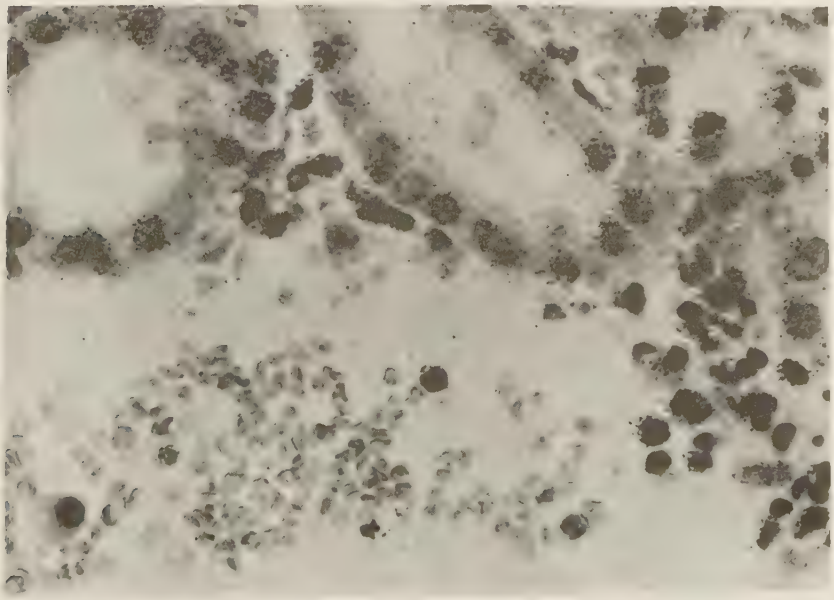


Abb. 1 b Vergrößerung: 1:630
Legende s. Seite 64

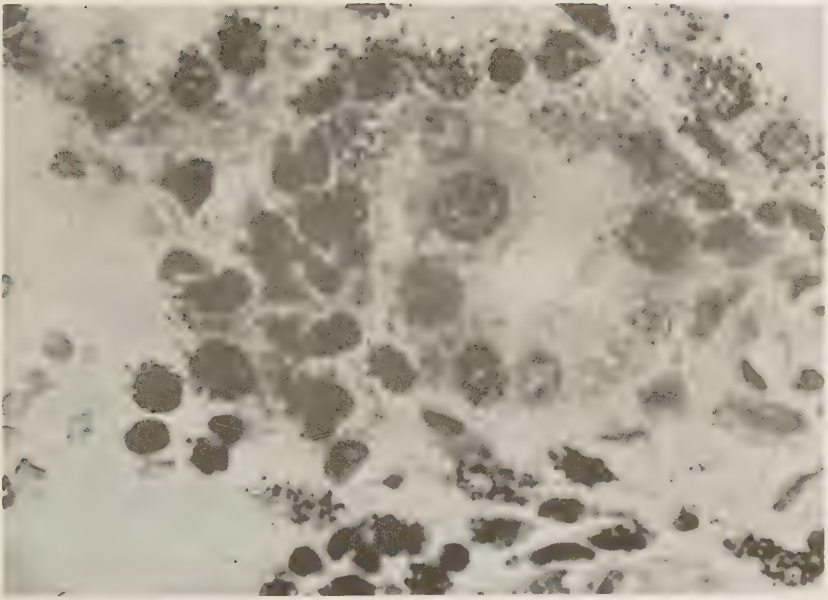


Abb. 1 c Vergrößerung: 1:1000
Legende s. Seite 64

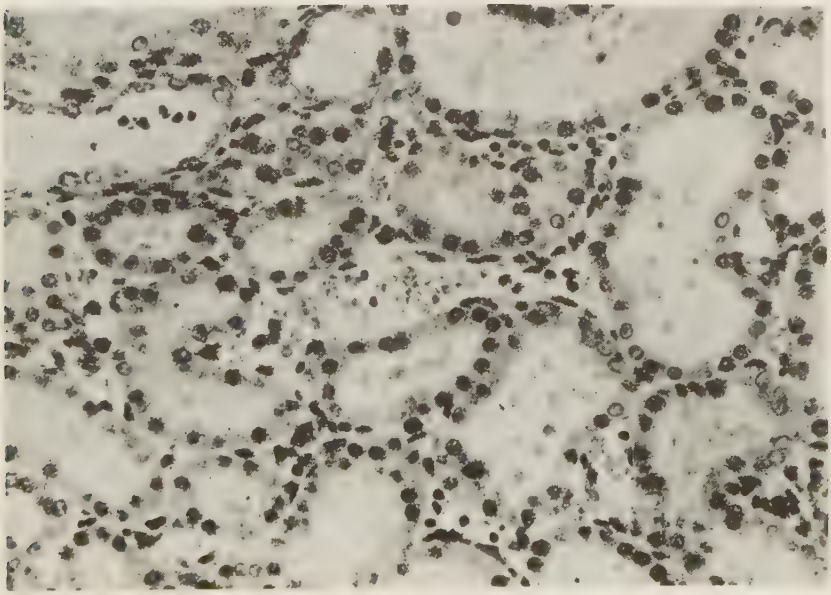


Abb. 2 a Vergrößerung: 1:275
Legende s. Seite 64

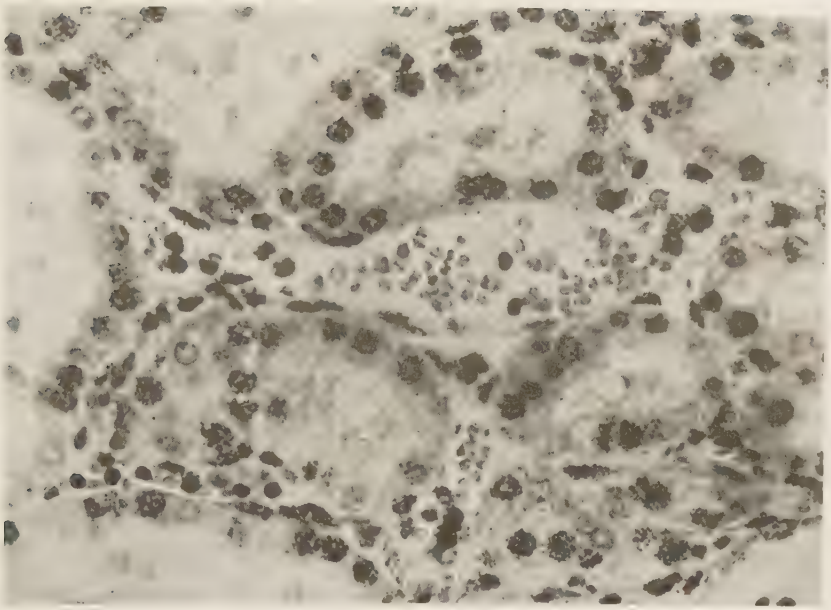


Abb. 2 b Vergrößerung: 1:475
Legende s. Seite 64

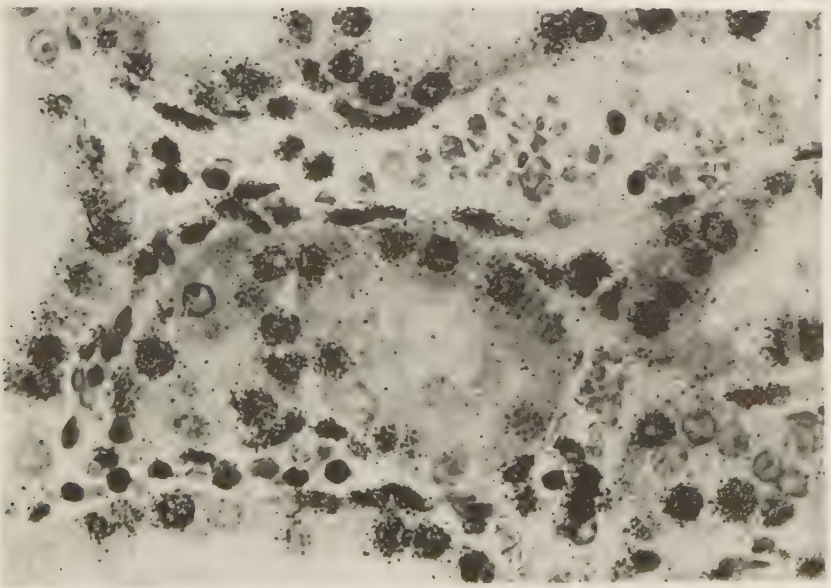


Abb. 2 c Vergrößerung: 1:630
Legende s. Seite 64

Legende zu

Abb. 3 a - c, Abb. 4 a, b

Nachgefärbte Autoradiogramme, Rattenniere 3,5 d nach einmaliger intravenöser Folsäureinjektion (375 mg/kg KG), 3,5 d ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion: Tubulusmarkierung etwas geringer als bei 3 d (Abb. 1 a, b) desgleichen mesenchymaler Zellen. Mesenchymale Zellen sowohl markierte als auch nicht markierte, plump-ovalär, vielfach rundlich gestaltet (Abb. 3 a, b; 4 a, b). Herdförmiges Auftreten mesenchymaler Zellen mit pyknotischen Kernen (Abb. 3 b; 4 a, b). Intravasal wiederum zumeist radioaktiv markierte, abgerundete, mit Kernpyknosen versehene mononukleäre Elemente (Abb. 4 b). Gelegentlich (Abb. 3 c, 4 a, b) in Gruppen auftretende mesenchymale Zellen mit polymorph-gelappt strukturierten Kernen (Abb. 3 b, c; 4 a, b), offen sichtlich Karyorhexis und Karyolysis, einzelne nicht kerngebundene Silberkörner in der Zirkumferenz solcher Kernkonfigurationen (Abb. 3 c). In Abb. 4 b radioaktiv markierte, mononukleäre Elemente und unmarkierte Exemplare, untermischt mit einigen Erythrocyten in einer Kapillare.

Vergrößerung: Abb. 3 a = 325fach Abb. 4 a = 400fach
Abb. 3 b = 450fach Abb. 4 b = 475fach
Abb. 3 c = 630fach

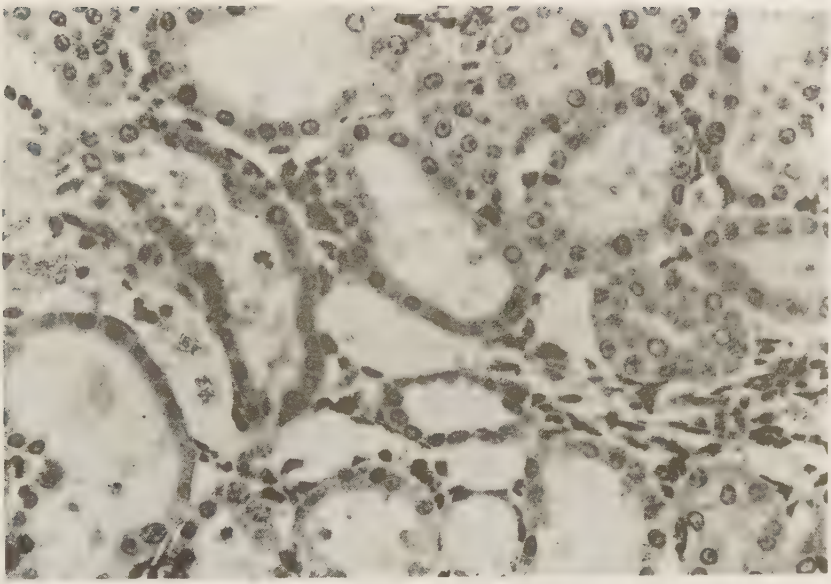


Abb. 3 a Vergrößerung: 1:325
Legende s. Seite 72

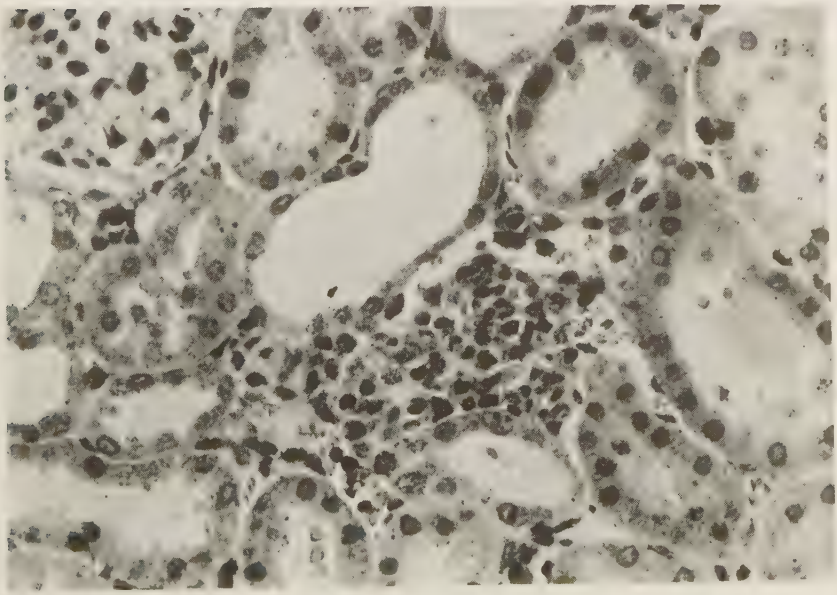


Abb. 3 b Vergrößerung: 1:450
Legende s. Seite 72

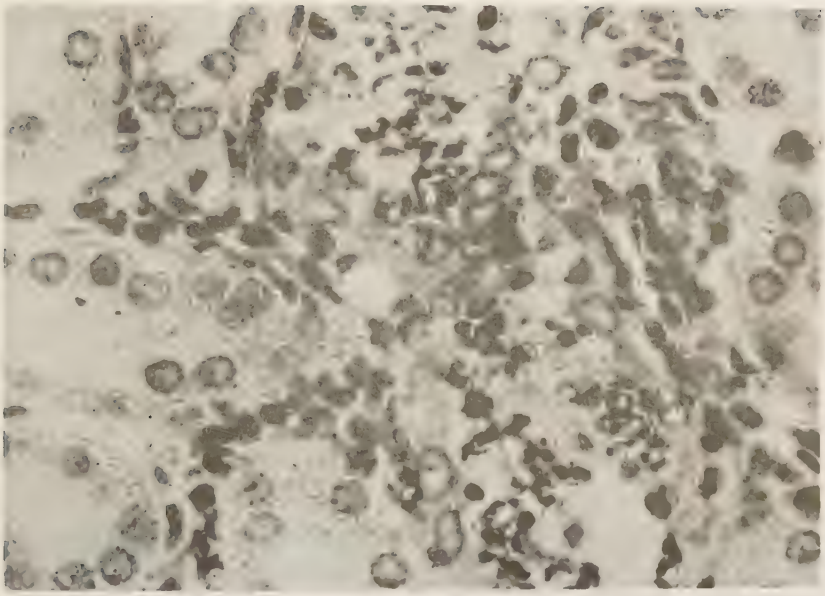


Abb. 3 c Vergrößerung: 1:630
Legende s. Seite 72

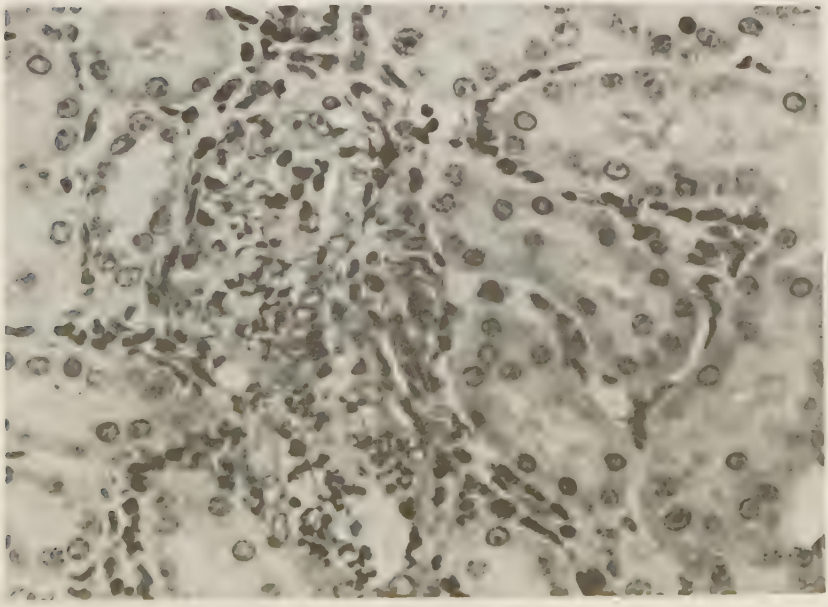


Abb. 4 a Vergrößerung: 1:400
Legende s. Seite 72

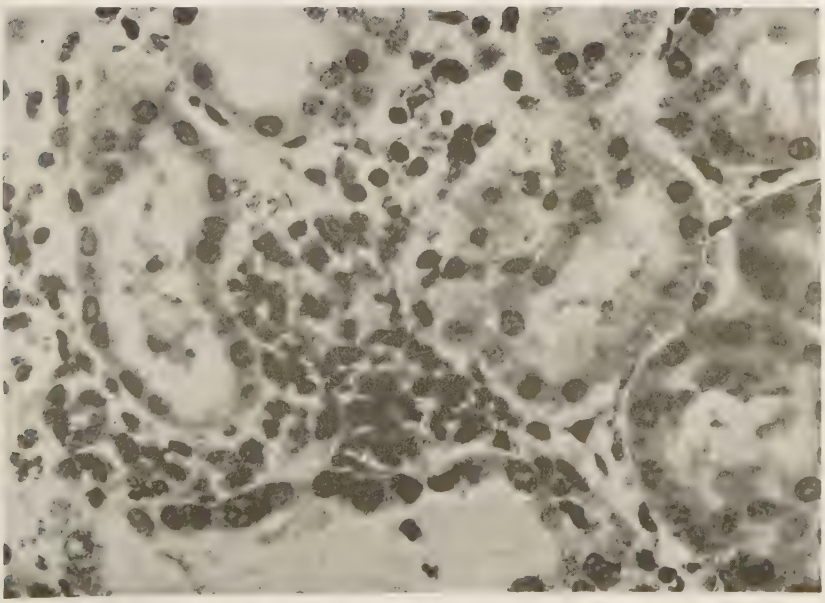


Abb. 4 b Vergrößerung: 1:475

Legende s. Seite 72

Legende zu

Abb. 5 a, b

Nachgefärbte Autoradiogramme, Rattenniere 4 d nach einmaliger intravenöser Folsäureinjektion (375 mg/kg KG), 4 d nach ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion: Tubulusepithel reichlich markiert, reichlich markierter cell loss mesenchymaler Zellen (Abb. 5 a). Mesenchymale Zellen wieder meist schlanker, ovalär bis spindelig(5 a, b), hoher Markierungsindex. Vereinzelt noch pyknotische, markierte und nicht markierte mesenchymale Zellen (Abb. 5 a Bildmitte und rechter oberer Quadrant). Offensichtliche Reduktion markierter intravasaler Elemente (Abb. 5 a) gegenüber den vorangegangenen Tagen. Immer wieder in Rinde (Abb. 5 a), etwas weniger im Mark (Abb. 5 b) haufenförmig anzutreffende geschwollene, markierte Mesenchymzellen. Hoher Markierungsindex im Tubulusepithel, cell loss.

Vergrößerung: Abb. 5 a = 475fach

Abb. 5 b = 450fach

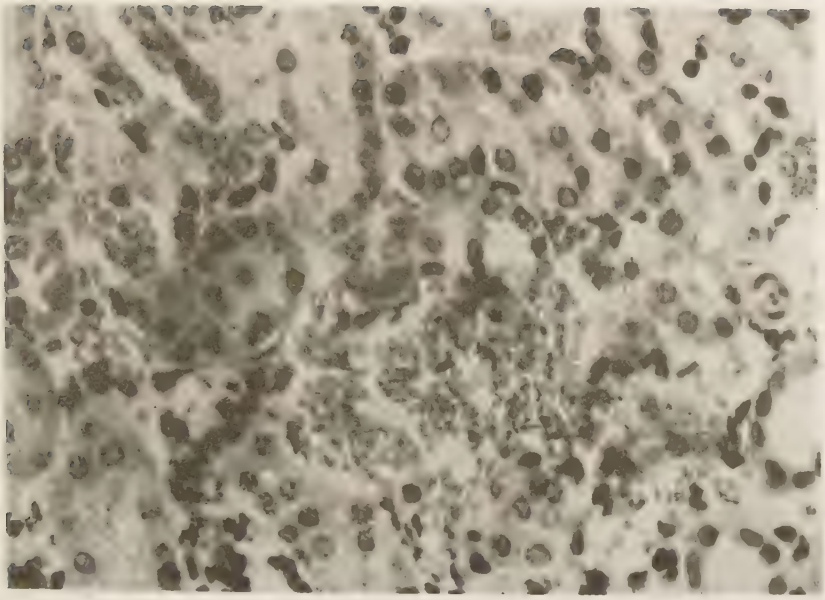


Abb. 5 a Vergrößerung: 1:475
Legende s. Seite 80

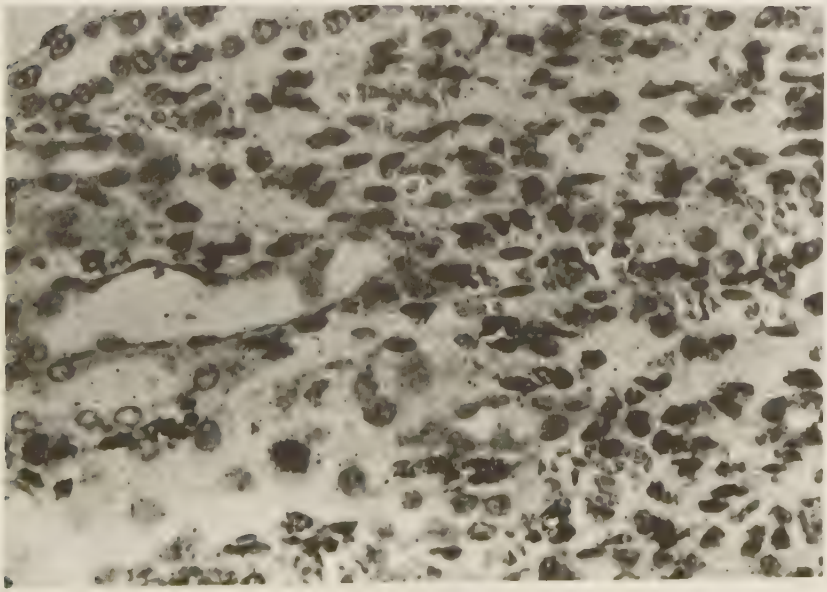


Abb. 5 b Vergrößerung: 1:450
Legende s. Seite 80

Für alle Präparate:

Alle glomerulären Zellpopulationen so gut wie nicht markiert. Im Glomerulum lediglich Markierung des parietalen Blattes der Bowmann'schen Kapsel (phylogenetisch = Tubulusepithelien)

Resumée der mesenchymalen Proliferationskinetik:

Zunächst hoher Markierungs-Index typischer Mesenchymzellen. Beginnende Mesenchymzellnekrosen, intravasaler Abtransport (cell loss) mesenchymaler Zellen (3 d). Bei 3,5 d weiterer Abtransport mononukleärer Zellen. Abgefallener ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index in den Mesenchymzellen. Wahrscheinlich entstehen neue Mesenchymzellen durch Umtransponierung aus anderen mononukleär unspezifischen Gewebselementen. Immer noch Nekrosen und Kernpyknosen in Mesenchymzellen nachweisbar. Am vierten Tag gehäuftes Auftreten gruppenweise formierter, typisch konfigurierter, mesenchymaler Zellverbände mit chromatindichten Kernen, alle radioaktiv markiert. Nur noch vereinzelt intravasaler Abtransport mononukleärer Zellen.

LITERATURVERZEICHNIS

ALTMANN, H. W.
Der Zellersatz, insbesondere an den parenchymatösen Organen.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 50, 15-53 (1966)

BIPPUS, P. H., E. STÖCKER und VERENA BUHR-CZEKAY
Proliferationskinetik der regenerierenden Rattenleber.
Symp. Marburg/Lahn 12.-13. Nov. 1976
Hrsg. O. Zelder, M. Fischer, H. Hamelmann
pp. 258-263, Marburg/Lahn (1976)

BRADE, W., H. HERKEN und H. J. MERKER
Funktionsstörung und Stimulation des Wachstums der Niere durch Folsäure in hoher Dosierung.
Klin. Wschr. 46, 1232-1233 (1968)

BRADE, W., H. HERKEN, H. J. MERKER und W. DRESCHER
Schädigung und Regeneration renaler Tubuluszellen nach Folsäuregabe.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak.
Exp. Path. 262, 228-250 (1969)

BRADE, W.
Die Stimulation der cytoplasmatischen Proteinsynthese.
8. Symp. Dtsch. Ges. Nephrol., Aachen (1971)
"Renale Elimination von Pharmaka"
pp. 723-729
Hrsg.: R. HEINTZ und H. HOLZHÜTER
Selbstverlag 1972

BRÄU, G.
Zur Regenerationskapazität der Leber junger, wiederholt teilhepatektomierter Ratten. Autoradiographische Untersuchung mit ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion.
Med. Inaug. Diss., Würzburg (1976)

BUHR, R.

Zur Regenerationskapazität in der Leber alter Ratten nach 2/3 Teilhepatektomie während einer akuten CCl_4-Intoxikation. Autoradiographische Untersuchungen mit ^3H-Thymidin-Dauerinfusion.
Med. Inaug. Diss. Würzburg (1973)

EVE, CH. and S. H. ROBINSON
Apparatus for continuous longterm intravenous infusions in small animals.
J. Lab. Clin. Med. 62, 169-174 (1963)

GIESECKE, CH.

Zur Proliferationskinetik der Tubulusepithelien ausgewachsener Ratten nach unilateraler Nephrektomie.
- Autoradiographische Untersuchungen mit ^3H-Thymidin -
Med. Inaug. Diss. Würzburg (1971)

HAAS, G.

Ausmaß und Topik der renalen tubulären Zellproliferation nach Folsäuregabe in Abhängigkeit von der Dosis. Autoradiographische Untersuchungen nach singulärer Injektion von ^3H-Thymidin an Ratten.
Med. Inaug. Diss. Würzburg (1976)

HEINE, W.-D.

Die Zellproliferation der Niere unter normalen und pathologischen Bedingungen. Autoradiographische Untersuchungen mit ^3H-Thymidin an der Ratte.
Med. Inaug. Diss. Würzburg (1968)

--

Zur reparativen Nierenregeneration.
8. Symp. Dtsch. Ges. Nephrol., Aachen (1971)
"Renale Elimination von Pharmaka"

pp. 779-785
Hrsg.: R. HEINTZ und H. HOLZHÜTER
Selbstverlag 1972

--

Das kompensatorische Nierenwachstum und seine Regulation.
Med. Habil. Schrift, Würzburg (1973)

HERKEN, H.

Molekularbiologische Prozesse bei der Nierenregeneration.
8. Symp. Dtsch. Ges. Nephrol., Aachen (1971)
"Renale Elimination von Pharmaka"
pp. 709-716
Hrsg.: R. HEINTZ und H. HOLZHÜTER
Selbstverlag 1972

--

Processus Biochimiques pendant la Régénration rénale après Lésion par des Dérivés ptéridiniques. Extrait des ACTUALITÉS PHARMACOLOGIQUES Vingt-quatrième série, pp. 183-210 (1971)
MASSON et C^{ie}, Editeurs, Paris (1971)

HÜBNER, K.

Veränderungen der DNS-Synthese in der Niere nach vorausgegangener temporärer Ischämie.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 48, 273-279 (1964)

--

Experimentelle Untersuchungen über die kompensatorische Hypertrophie, Wachstum und Regeneration der Rattenniere.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 50, 132-137 (1966)

--

Kompensatorische Hypertrophie, Wachstum und Regeneration der Rattenniere.
Ergeb. Path. Anat. 48, 1-80 (1967)

KIPPING, W.
Zur Regenerationskapazität in der Leber alter Ratten nach 2/3 Teilhepatektomie. Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion.
Med. Inaug. Diss. Würzburg (1974)

KITTIDESDAMKERNG, C.
^{3}H-Radioaktivitätsmessung in der Niere nach einmaliger Folsäuregabe und ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion an Ratten. Konfrontation mit einschlägigen autoradiographischen Untersuchungen.
Med. Inaug. Diss. FU-Berlin (1978)

LAMBERTZ, H.-U.
Umfang und Topik der tubulären Zellproliferation in der Rattenniere nach einmaliger Folsäuregabe.
Autoradiographische Untersuchungen nach ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion.
Med. Inaug. Diss., Würzburg (1976)

LÖBBECKE, E. A., B. SCHULTZE und W. MAURER
Variability of generation time within fetal cell types of the rat examined with continuous infusion of ^{3}H-thymidine.
Exp. Cell. Res. 55, 176-184 (1969)

MALANGRÉ, J.
Zur kompensatorischen und reparativen Nierenregeneration nach 2/3 Nephrektomie. - Autoradiographische Untersuchungen nach Injektion und Dauerinfusion von ^{3}H-Thymidin.
Med. Inaug. Diss. Würzburg (1971)

MENDELSOHN, M. L., F. C. DOHAN and H. A. MOORE
Autoradiographic analysis of cell proliferation in spontaneous breast cancer of C3H mouse.
J. Natl. Cancer Inst. 25, 477-484 (1960)

MENDELSOHN, M. L.
Autoradiographic analysis of cell proliferation in spontaneous breast cancer of C3H mouse. III. The growth fraction.
J. Natl. Cancer Inst. 28, 1015-1029 (1962)

MOHR, W. und K. PAULINI
Quantitative und qualitative Abläufe der mesenchymalen Zellproliferation im Alter.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 59, 94-110 (1975)

NEUMANN-REDLIN, E.
Zur Proliferation der kompensatorisch regenerierenden Niere nach kontralateraler Nephrektomie. Autoradiographische Untersuchungen nach ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion.
Med. Inaug. Diss. Würzburg (1969)

NOLTENIUS, H. und SCHELLHAS
Hyperplasie und Regeneration des Nierenparenchyms nach Nephrektomie und Sublimatvergiftung.
Klin. Wschr. 10, 520 (1963)

NOLTENIUS, H., H. SCHELLHAS und W. OEHLERT
Histoautoradiographische Befunde zur Tubuluszellregeneration nach akuter Sublimatvergiftung.
Naturwissenschaften 51, 15-16 (1964)

OBERDISSE, E., R. SCHURIG
Induktion von Enzymen der Pyrimidin-Biosynthese in der regenerierenden Niere nach Gabe hoher Dosen Folsäure.
8. Symp. Dtsch. Ges. Nephrol., Aachen (1971)
"Renale Elimination von Pharmaka"
pp. 731-738
Hrsg.: R. HEINTZ und H. HOLZHÜTER
Selbstverlag 1972

OTTO, G. F.

Zur reparativen und kompensatorischen Nierengeneration. Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin nach temporärer unilateraler Nierenischämie an Ratten.
Med. Inaug. Diss. Würzburg (1970)

PILGRIM, Ch., K.-J. LENNARTZ, K. WEGENER, S. HOLLWEG und W. MAURER

Autoradiographische Untersuchungen über tageszeitliche Schwankungen des ^{3}H-Index und des Mitose-Index bei Zellarten der ausgewachsenen Maus, des Rattenfetus sowie bei Ascitis Tumorzellen.
Z. Zellforsch. 68, 138-154 (1965)

SCHMIDT, U., U. C. DUBACH, J. TORHOST

Die NaK stimulierte Adenosintriphosphatase in Segmenten vom proximalen und distalen Rattentubulus zu verschiedenen Zeiten nach Folsäure: Quantitative histochemische Untersuchungen.
8. Symp. Dtsch. Ges. Nephrol., Aachen (1971)
"Renale Elimination von PHarmaka"
pp. 739-742
Hrsg.: R. HEINTZ und H. HOLZHÜTER
Selbstverlag 1972

SCHMITT, W. und G. BENEKE

Die Bindegewebsproliferation in Abhängigkeit vom Lebensalter. II. Untersuchung der Wachstumsrate der Bindegewebszellen
Beitr. Path. 144, 201-210 (1971)

SCHNEIDER, D.

DNS-Synthese und Proliferationsumfang als Funktion des Alters in Niere und Leber von Ratten. Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin.
Med. Inaug. Diss. Würzburg (1970)

SCHUBERT, G. E.

Resistenz des Nierengewebes gegen Dichromat- oder Serotoninschäden während eines Folsäure-induzierten Proliferationsschubes.
8. Symp. Dtsch. Ges. Nephrol., Aachen (1971)
"Renale Elimination von Pharmaka"
pp. 795-797
Hrsg. R. HEINTZ und H. HOLZHÜTER
Selbstverlag 1972

SCHULTZE, B.

Die Orthologie und Pathologie des Nukleinsäure- und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm.
"Hdb. allg. Path." Bd. II/5,
pp. 466-670, Springer-Verlag,
Berlin-Heidelberg-New York 1968

SCHULTZE, B., E. A. LÖBBECKE und W. MAURER

Autoradiographische Untersuchungen zur Variabilität der Generationszeit von fetalen Zellarten der Ratte mit Hilfe von Dauerinfusionen mit ^{3}H-Thymidin.
12. Symp. Ges. f. Histochemie, Gent (1967)
Acta Histochem., Suppl. VIII, 351-356 (1968)

STÖCKER, E.

Der Proliferationsmodus in Niere und Leber.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 50, 53-74 (1966)

--

Autoradiographische Untersuchungen zum zellulären Proliferationsstoffwechsel im Parenchym von Leber und Niere der Ratte.
12. Symp. Ges. Histochem. Gent (1967)
Acta Histochem., Suppl. VIII, 205-229 (1968)

--

Wachstum und Regeneration in parenchymatösen Organen der Ratte. Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin.

Tagung der Tschecho-Slowakischen Ges. f. Cyto- und Histochemie, Brünn (1968)

STÖCKER, E.
Growth and regeneration in parenchymatous organs of rats.
II. Meeting of Europ. Study Group f. Cell Proliferation, Schloß Reisensburg, Okt. (1968)

--
Regenerationskapazität und Zellneubildungsmechanismus in der Rattenleber.
Vortrag. Med. Fakultät d. Univ. d. Saarlandes, Homburg (Saar) (1970)
Saarländ. Ärztebl. 24, 95-101 (1971)

--
Altersabhängige Zellproliferationskinetik und Regenerationskapazität im Leberepithel der Ratte.
Kongr. Dtsch. Ges. Geront., Nürnberg (1971)
Aktuelle Geront. 1, 659-665 (1971)

--
Physiologischer Zellersatz und kompensatorische Regeneration.
8. Symp. Dtsch. Ges. Nephrol., Aachen (1971)
"Renale Elimination von Pharmaka"
pp. 763-770
Hrsg.: R. HEINTZ und H. HOLZHÜTER
Selbstverlag 1972

--
Proliferationskinetik in parenchymatösen Organen und im Dünndarmepithel juveniler Ratten.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 57, 388 (1973)

--
Altersabhängige Zellproliferationskinetik im Leberepithel der Ratte.
"Experimentelle Gerontologie"
pp. 17-34, Hrsg.: D. PLATT
Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart (1974)

STÖCKER, E.
Altersabhängige Proliferationskinetik in parenchymatösen Organen von Ratten.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 59, 78-94 (1975)

--
Zur DNS-Synthese in Zellkernen der regenerierenden Rattenleber als Funktion des Alters
III. Gießener Symp. über experimentelle Gerontologie, (14.-15.3.1975)
"Alternstheorien", pp. 121-143
Hrsg.: D. PLATT
F. K. Schattauer-Verlag, Stuttgart-New York 1976

--
Wachstums- und Regenerationsvorgänge in der Leber.
Vortrag vor der Berliner Med. Ges. und der Berliner Ges. f. Path. am 11.02.1976

--
Zellproliferation in renalen Tubulus- und Nierenbeckenepithelien der Ratte nach Folsäureapplikation.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 62, (1978 im Druck)

STÖCKER, E. und D. BUTTER
Die DNS-Synthese in Leber und Niere junger Ratten. Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin.
Experientia 24, 704-705 (1968)

STÖCKER, E. und W.-D. HEINE
Proliferation und Regeneration in Leber und Niere der juvenilen Ratte.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 55, 483-487 (1971)

STÖCKER, E., E. TEUBNER und G. ROSENBUSCH
Die DNS-Synthese als Funktion des Alters in Leber und Niere der Ratte.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 48, 295-299 (1964)

STÖCKER, E., B. SCHULTZE, W.-D. HEINE und H. LIEBSCHER
Wachstum und Regeneration in parenchymatösen Organen der Ratte.
Z. Zellforsch. 125, 306-331 (1972)

STÖCKER, E., H. K. WULLSTEIN und G. BRÄU
Zur Regenerationskapazität des Epithels junger, wiederholt teilhepatektomierter Ratten. Autoradiographische Untersuchungen nach kontinuierlicher Dauerinfusion von ^{3}H-Thymidin.
Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 14, 95-103 (1973)

THRELLFALL, G. and D. M. TAYLOR
Relationship between DNA, RNA and Protein Synthesis in Folic Acid-Induced Renal Hypertrophy.
8. Symp. Dtsch. Ges. Nephrol., Aachen (1971)
"Renale Elimination von Pharmaka"
pp. 717-722
Hrsg.: R. HEINTZ und H. HOLZHÜTER
Selbstverlag 1972

TORHORST, J., R. DEBROS, G. THIEL und U. SCHMIDT
Frühveränderungen der Rattenniere nach Folsäuregabe.
8. Symp. Dtsch. Ges. Nephrol., Aachen (1971)
"Renale Elimination von Pharmaka"
pp. 489-495
Hrsg.: R. HEINTZ und H. HOLZHÜTER
Selbstverlag 1972

ULBRICH, V.
Zur Regenerationskapazität in der Leber alter Ratten (13-20 Monate) nach 2/3-Teilhepatektomie während einer durch Thiocetamid erzeugten Cirrhose. - Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion.
Med. Inaug. Diss. Würzburg (1974)

UNGER, K.

Ablauf, Umfang und Modus der Proliferation von Nierentubuli nach temporärer, unilateraler Nierenischämie. Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin an Ratten.
Med. Inaug. Diss. Würzburg (1971)

WEGENER, K., S. HOLLWEG und M. MAURER

Autoradiographische Bestimmung der DNS-Verdopplungszeit und anderer Teilphasen des Zellzyklus bei fetalen Zellarten der Ratte.
Z. Zellforsch. 63, 309-326 (1964)

WEGENER, K. und S. HOLLWEG

Autoradiographische Bestimmung der Generationszeit und der Dauer von Teilphasen bei fetalen Zellen der Ratte.
Anat. Anz. 115, 134-140 (1964)

WICK, U.

Zur kompensatorischen und reparativen Regeneration von Nierentubuli juveniler und ausgewachsener Ratten. Autoradiographische Untersuchungen nach Injektion und Dauerinfusion von ^{3}H-Thymidin nach temporäer, unilateraler Nierenischämie.
Med. Inaug. Diss. Würzburg (1971)

WULLSTEIN, H. K., E. STÖCKER und G. HÜBLER

Extend and mode of renal tubular cell proliferation in rats in relation to folic acid concentration.
6th Meeting of the European Study Group for Cell Proliferation.
Moskau (1973)

Meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. E. Stöcker danke ich für die Überlassung des Disserationsthemas, besonders aber für seinen stets gerne gewährten Rat und die Übernahme des Referates.

Frau Professor Dr. I. Schlicht danke ich für die Übernahme des Korreferates.

DISSERTATIONSDRUCK WALTER MONATH
Wichurastr. 58c Tel. 030/775 47 76/77 1 Berlin 46